

# L'INDOL

## et ses dérivés en Biologie

---

### THÈSE

*présentée et soutenue publiquement le 27 Mai 1934*

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE NANCY

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE

Docteur de l'Université  
(Mention Pharmacie)

PAR

**André BIGOT**

Pharmacien

*Né le 17 Janvier 1908 à Fumay*

---

|                          |   |                         |            |
|--------------------------|---|-------------------------|------------|
| Examineurs de la Thèse : | { | MM. PASTUREAU . . . . . | Président. |
|                          |   | GILLOT . . . . .        | Juges.     |
|                          |   | CORDEBARD . . . . .     |            |

---

NANCY

SOCIÉTÉ D'IMPRESSIONS TYPOGRAPHIQUES

1934







# L'INDOL et ses dérivés en Biologie

---

## THÈSE

*présentée et soutenue publiquement le*      *Mai 1934*

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE NANCY

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE

Docteur de l'Université  
(Mention Pharmacie)

PAR

**André BIGOT**

Pharmacien

*Né le 17 Janvier 1908 à Fumay*

---

|                          |   |                         |            |
|--------------------------|---|-------------------------|------------|
| Examineurs de la Thèse : | { | MM. PASTUREAU . . . . . | Président. |
|                          |   | GILLOT . . . . .        | Juges.     |
|                          |   | CORDEBARD . . . . .     |            |

---

NANCY  
SOCIÉTÉ D'IMPRESSIONS TYPOGRAPHIQUES  
1934

# UNIVERSITÉ DE NANCY - FACULTÉ DE PHARMACIE

## PERSONNEL ENSEIGNANT

### DOYEN HONORAIRE:

M. BRUNTZ, O. ☼, ☼, I ☼, O. ☼, ☼, ☼, Recteur de l'Université de Nancy

### PROFESSEURS HONORAIRES:

MM. FAVREL, ☼, I ☼

BRUNTZ, O. ☼, ☼, I ☼, O. ☼, ☼, ☼

### DOYEN:

M. SEYOT, ☼, ☼, I ☼, ☼, ☼

### ASSESSEUR:

M. GILLOT, I ☼, ☼

### PROFESSEURS:

|                             |                      |
|-----------------------------|----------------------|
| MM. GRÉLOT, ☼, I ☼, ☼.....  | Pharmacie galénique. |
| DOURIS, I ☼, ☼, ☼.....      | Toxicologie.         |
| PASTUREAU, O ☼, I ☼, ☼..... | Pharmacie chimique.  |
| SEYOT, ☼, ☼, I ☼, ☼, ☼..... | Histoire naturelle.  |
| LASSEUR, ☼, I ☼, ☼.....     | Microbiologie.       |
| GILLOT, I ☼, ☼.....         | Matière médicale.    |
| PRÉVOST, ☼.....             | Chimie organique.    |

### AGRÉGÉ LIBRE:

M. GIRARDET, ☼, I ☼..... Chimie et Toxicologie.

### CHARGÉS DE COURS

|                             |                                 |
|-----------------------------|---------------------------------|
| MM. PRÉVOST, ☼.....         | Chimie minérale et Minéralogie. |
| GRÉLOT, ☼, I ☼, ☼.....      | Hydrologie.                     |
| PASTUREAU, O ☼, I ☼, ☼..... | Chimie biologique.              |
| DONZELOT.....               | Physique.                       |
| VERNIER, I ☼.....           | Zoologie.                       |
| SIMONNET, I ☼.....          | Législation et Déontologie.     |
| GILLOT, I ☼, ☼.....         | Pharmacotechnie.                |
| CORDEBARD, I ☼, ☼.....      | Analyse chimique.               |
| SEYOT, ☼, ☼, I ☼, ☼, ☼..... | Hygiène.                        |

### CHEFS DE TRAVAUX:

|                              |                                   |
|------------------------------|-----------------------------------|
| MM. VERNIER, I ☼.....        | Microbiologie et Parasitologie.   |
| MEUNIER.....                 | Pharmacie.                        |
| CORDEBARD, I ☼, ☼.....       | Chimie et Analyse chimique.       |
| STEIMETZ.....                | Micrographie.                     |
| DONZELOT (chargé de travaux) | Physique.                         |
| DIVOUX (chargé de travaux).. | Chimie biologique et Toxicologie. |

### SECRÉTARIAT:

M. E. TRIBOLET, I ☼..... Secrétaire.

*La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.*



A MES PARENTS

A MES MAITRES

## INTRODUCTION

---

Lorsque, sur les conseils de notre maître M. le Professeur PASTUREAU, nous avons entrepris notre travail, nous étions rempli de crainte en constatant la disproportion qui existait entre le maigre bagage que nous possédions sur l'Indol et ses dérivés en biologie et le but que nous nous étions proposé: faire une revue aussi exacte et aussi scrupuleuse que possible des connaissances actuelles sur cette question.

Peu à peu, aux quelques lignes que nous avions trouvées dans les traités venaient se substituer des travaux nombreux, vastes et souvent contradictoires et à mesure que notre documentation se poursuivait, l'intérêt de la question augmentait à nos yeux.

Qu'il nous soit permis de rendre ici un hommage reconnaissant à M. le Professeur PASTUREAU qui, en maître bienveillant, a su nous éclairer de sa compétence et de son érudition, aiguiller nos premières recherches et guider nos pas dans le maquis bibliographique où il nous fallut parcourir notre route.

L'indol, corps aromatique hétérocyclique, tant par lui-même que par ses dérivés, tient une place très large dans la presque unanimité des êtres vivants. Dans la série animale, il est un des constituants des matières excrémentielles.

C'est au cours de la dégradation de quelques albuminoïdes qu'il apparaît, sous certaines influences se rattachant au chimisme alimentaire. Et de ce fait, son étude se présente comme celle d'un point particulier du métabolisme des protéides.

Il suffit de consulter une liste des publications se rattachant à ce corps pour se rendre compte que de tout temps, les problèmes biologiques posés par l'indol ou ses dérivés éveillèrent un intérêt qui a évolué, certes, mais ne s'est jamais démenti.

L'indol prenant naissance au cours des phénomènes digestifs, c'est là ce qui nous a dicté le plan que nous avons suivi au cours de notre travail: nous avons observé un ordre physiologique si on peut s'exprimer ainsi.

Après une étude purement chimique, nous avons abordé la partie biologique proprement dite : après un rapide examen de la toxicité des corps de la série indolique, nous nous sommes attaché à savoir quelles en étaient les origines dans les organismes supérieurs : origine alimentaire, exogène, sous l'influence des germes bactériens.

L'indol ainsi libéré est alors absorbé avec les autres produits de la digestion et modifié, transformé, tout en conservant sa structure générale, en chromogènes.

Ceux-ci passent alors dans la circulation générale et nous avons consacré un chapitre spécial à examiner, à la lumière des diverses opinions, la façon dont ils se comportaient dans le milieu sanguin.

Ces chromogènes, substances de déchet, s'éliminent par le rein et se retrouvent dans l'urine, dernier stade de l'existence biologique des corps de la série indolique et qui nous a fourni le dernier chapitre de notre thèse.

---

PREMIÈRE PARTIE

---

**L'INDOL ET SES DÉRIVÉS  
AU POINT DE VUE CHIMIQUE**



## CHAPITRE PREMIER

---

# L'INDOL

---

### PROPRIÉTÉS PHYSIQUES

L'indol est un solide cristallisé en lamelles incolores brillantes, d'odeur fécaloïde très pénétrante, mais qui, à l'état de traces, jouit de propriétés odorantes, l'essence naturelle de jasmin en renfermant 2,5 %.

Il se pourrait que l'odeur de l'indol n'appartint pas à ce corps lui-même, mais dût être attribuée à des corps très voisins. HESSE l'ayant rencontré dans l'essence de jasmin, constata que bien purifié, quelle que soit son origine, même putréfactive ou fécale, il a une odeur fraîche donnant un caractère particulièrement agréable aux parfums qu'il accompagne à petit dose. BÖYER fit la même remarque pour le skatol. Quoi qu'il en soit, si c'est la présence de corps voisins qui donne l'odeur, ils doivent avoir certaines propriétés communes et sans doute une forte analogie de constitution, puisque même dans l'indol venant de la fusion alcaline des mélanines ou de la réduction de l'indigo, on retrouve l'odeur tenace.

L'indol fond à 52° et entre en ébullition à 254° sous la pression ordinaire en se décomposant partiellement. Il est volatil, mais ne peut être distillé à sec sans décomposition; il se laisse facilement entraîner par la vapeur d'eau.

Il est peu soluble dans l'eau froide, un peu plus soluble à chaud, facilement soluble dans les hydrocarbures, l'alcool, l'éther sulfurique, le chloroforme, la benzine et la ligroïne, ces deux derniers dissolvants l'enlevant par simple agitation aux solutions aqueuses.

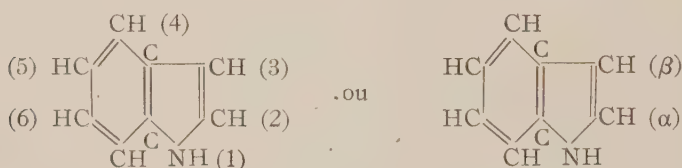
Il est inactif sur la lumière polarisée.

Il possède une densité de vapeur, par la méthode d'HOFFMANN dans la naphthaline bouillante, qui est de 4,4 d'après NENCKI, alors que la théorie, en admettant pour formule  $C^8 H^7 N$ , prévoit 4,5.

En général, l'indol et ses homologues dont le groupement alcoylé n'est pas fixé à l'azote, sont solides. Les phénylindols sont dépourvus d'odeur et ne sont pas volatils. Les homologues de l'indol se dissolvent dans les acides concentrés d'où l'eau les précipite; cependant avec  $\text{SO}_4 \text{ H}^2$ , ils sont décomposés.

## GÉNÉRALITÉS SUR L'INDOL ET MODES DE PRÉPARATION

Au point de vue chimique c'est un benzopyrrol de formule  $\text{C}^8 \text{ H}^7 \text{ N}$ .



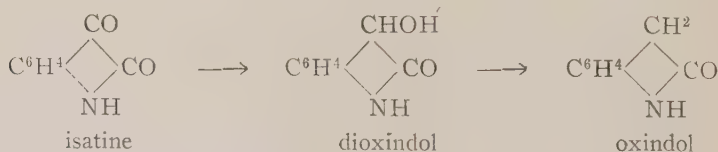
Pour différencier ses dérivés, on a donné à chaque sommet ayant un hydrogène substituable un numéro ou une lettre suivant les deux schémas ci-dessus.

Nous verrons que sa constitution se trouve vérifiée par diverses synthèses, par exemple, à partir des amines phénoliques.

Si nous faisons abstraction du domaine biologique, c'est-à-dire si nous laissons pour l'instant de côté la production d'indol sous l'influence des facteurs fermentaires ou bactériologiques, nous pouvons diviser les modes de formation en deux groupes.

### I. FORMATION A PARTIR DES DÉRIVÉS DU NOYAU INDOLIQUE

A) La réduction méthodique de l'isatine par l'amalgame de soude donne :



le dioxindol qui traité par l'étain en présence d'acide chlorhydrique est

réduit en oxindol. Celui-ci, chauffé à 400° avec de la limaille de zinc donne l'indol qui distille.

Ce procédé permit à BÆYER et KNOPP de découvrir l'indol (1866).

B) Réduction directe de l'indigotine (BÆYER, 1868).

L'indigo végétal, débarrassé au préalable de ses impuretés par l'alcool, est traité à l'ébullition par le mélange étain-acide chlorhydrique jusqu'à transformation en une poudre jaune brun. Celle-ci, lavée, séchée, est mélangée à un grand excès de zinc pulvérisé et le mélange distillé dans une cornue de cuivre; on obtient un produit huileux, qui, par lavage avec HCl étendu est débarrassé de l'aniline. On distille dans un courant de vapeur surchauffée. Le distillat est abandonné au repos dans le vide sulfurique. Il se sépare des cristaux incolores formant une croûte qu'on purifie en la dissolvant dans l'eau bouillante; par refroidissement le liquide se trouble et l'indol se dépose en feuillets incolores et brillants.

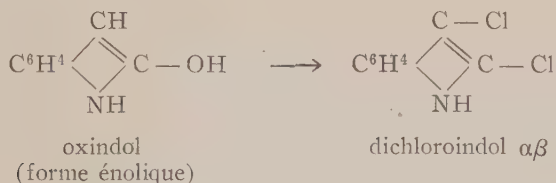
C) La réduction de l'isatine nous a donné d'après le procédé de BÆYER, de l'oxindol. Mais il existe d'autres façons d'obtenir ce corps:

1° Réduction de l'acide ortho-nitrophénylacétique par  $\text{SnCl}^2$ ;

2° Réduction de l'acide ortho-acétylaminophénylglycolique par HI.

(Ces modes de préparations nous amènent au deuxième groupe de modes de préparation de l'indol: création du noyau indolique.)

En possession de l'oxindol, sous l'action de  $\text{P Cl}^5$ , on le transforme en dichloroindol  $\alpha \beta$

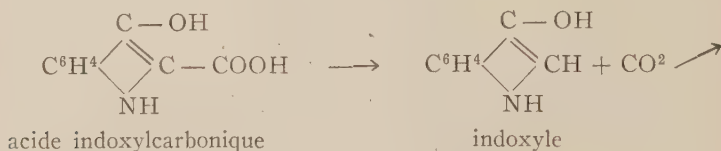


Le dichloroindol  $\alpha \beta$ , en solution dans l'alcool amylique bouillant, est réduit par des fragments de sodium et donne l'indol.

D) Si on cherche à réduire le dichloroindol  $\alpha \beta$  par H I, il se forme une substance condensée et oxydée  $(\text{C}^8 \text{H}^8 \text{NO})_n$ : c'est le rétinindol; la distillation sèche de ce produit libère de l'indol.

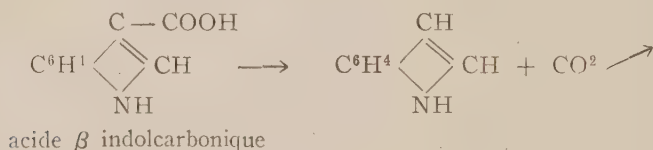
E) VORLÆNDER et APELT (1904) portent à l'ébullition à l'abri de l'air

une solution d'acide indoxylcarbonique dans la soude et obtiennent de l'indoxyle.



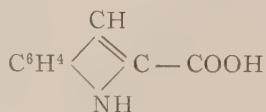
Puis ils traitent la solution refroidie vers 60-70° par l'amalgame de sodium. Après saturation par CO<sup>2</sup>, on entraîne l'indol par distillation avec la vapeur d'eau dans un courant de CO<sup>2</sup>. On peut aussi bien faire la réduction par le zinc pulvérisé introduit dans la solution alcaline bouillante.

F) L'acide β indolcarbonique chauffé fortement perd CO<sup>2</sup> et donne de l'indol.



La simple ébullition de la solution aqueuse de cet acide dégage une forte odeur d'indol.

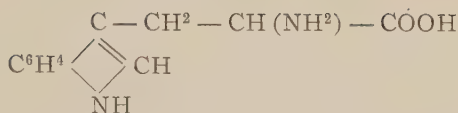
G) L'acide α indolcarbonique



(qui diffère de l'acide β en ce que celui-ci est un corps biologique, alors que l'acide α est du domaine de la chimie pure), est beaucoup plus stable que son isomère. Il ne se décompose qu'à température élevée (220° en présence d'anhydride acétique) et il donne, dans ces conditions, plutôt que de l'indol, une masse résinifiée (CIAMICIAN et ZATTI, 1888). Cependant, son sel calcaire, distillé avec deux ou trois fois son poids de chaux à demi éteinte, donne de l'indol avec un bon rendement.

H) Les vapeurs de skatol passant dans un tube chauffé au rouge donnent partiellement de l'indol.

## I) Le tryptophane



fondue avec K O H (ou soumise à l'action des bactéries putréfactives à l'abri de l'air) donne de l'indol.

J) La fusion potassique des substances du groupe des mélanines donne de l'indol et du skatol, surtout les mélanines suivantes : l'hippomélanine des tumeurs sarcomateuses du cheval (BERDEZ et NENCKI), la mélanine des membranes de l'œil (HIRSCHFELD et LANDOLT), les mélanines des crins de cheval (JONES).

Il n'y a d'ailleurs rien de surprenant à ce que les mélanines donnent de l'indol par fusion alcaline, étant donné qu'elles sont des dérivés tryptophaniques plus ou moins modifiés.

K) BOPP dès 1849, en fondant l'albumine avec un alcali caustique obtenait une substance volatile, d'odeur fécaloïde et qui devait être identique à celle que produit la putréfaction spontanée de la caséine.

Bien qu'ici nous nous proposons surtout une étude purement chimique de l'indol, nous ne pouvons passer sous silence la formation d'indol au cours de la putréfaction des matières albuminoïdes et en général, des substances contenant du tryptophane. Nous reviendrons d'ailleurs sur cette question au cours de l'étude de l'origine de l'indol dans l'organisme. Signalons simplement qu'on obtient de l'indol par putréfaction d'un très grand nombre de matières albuminoïdes. Le rendement en indol est variable suivant l'espèce protéique attaquée : l'ovalbumine donne jusqu'à 5 p. 1000 d'indol ; la fibrine, la caséine donnent de petites quantités, l'élastine pas du tout ; d'après E. et H. SALKOWSKI, ce serait la fibrine du sang de porc qui aurait le plus fort rendement avec 7 à 11 p. 1000. Nous rangeons ce mode de formation dans le premier groupe parce que, là encore, nous tirons l'indol, grâce à un travail chimique effectué par les bactéries, de dérivés du noyau indolique qui sont dans le cas présent, les matières protéiques tryptophaniques.

## II. — FORMATION D'INDOL PAR CRÉATION DU NOYAU INDOLIQUE

Ce sont là des synthèses purement chimiques et qui n'ont qu'un intérêt assez lointain pour la biologie, car on n'a pas encore découvert, dans

l'organisme animal, tout au moins chez les animaux supérieurs, le pouvoir de créer le noyau indolique à partir de corps dont le chimiste use pour en faire la synthèse. Une exception cependant: la réduction par l'organisme humain, de l'acide ortho-nitrophénylpropiolique en indoxyle.

Partout où le noyau indol se rencontre dans l'organisme, il a été l'objet d'un apport exogène de provenance végétale et dans le monde végétal même on n'a pu, jusqu'ici, que noter la synthèse du noyau sans en découvrir le mécanisme.

La synthèse de l'indol par création du noyau se fait toujours à partir de corps à noyau benzénique possédant une chaîne latérale azotée: amines phénoliques, dérivés nitrés, certaines phénylhydrazones... etc.

A) Des vapeurs d'éthylaniline passant dans un tube chauffé au rouge y subissent une déshydrogénation et donnent de l'indol:

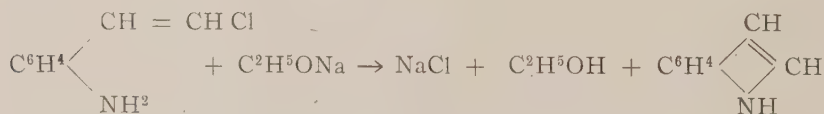


C'est une propriété commune à diverses anilines substituées en ortho, alors que les paratoluidines ne donnent pas d'indol (BÖYER et CARO).

C'est par un mécanisme de ce genre que l'indol se forme par cyclisation latérale de l'éthylène-phénylamine et de ses polymères (PRUDHOMME).

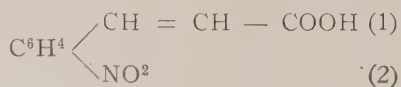
B) Les amines phénoliques à fonction éthylénique halogénée sont de bons producteurs d'indol.

1° L'ortho-aminochlorostyrolène, chauffé à 160-170° avec de l'éthylate de sodium ferme son noyau:



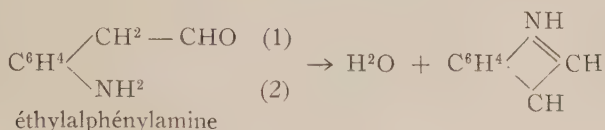
Si on emploie des bases secondaires dérivées de l'o-aminochlorostyrolène, on obtient des indols substitués à l'azote.

2° Réduction de l'acide ortho-nitrocinnamique

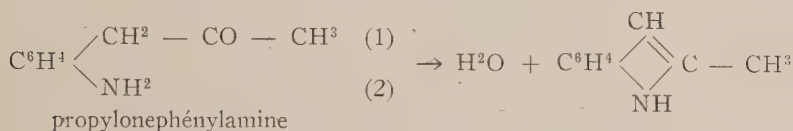


3° Chauffage de l'acide ortho-benzoylaminocinnamique avec HCl fumant.

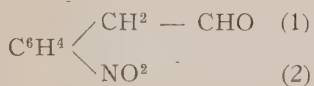
C) Les amines phénoliques à fonction aldéhyde ou cétone 1-2 donnent, par déshydratation, naissance à l'indol ou à ses homologues: l'éthylal-phénylamine fournit l'indol.



Le propylonephénylamine donne le méthylindol 2:



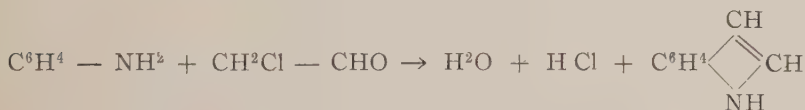
La réduction de l'orthonitrophénylacétaldéhyde appartient à ce groupe: l'hydrogène commence par réduire — NO<sup>2</sup> en NH<sup>2</sup> et transforme ainsi le dérivé nitré:



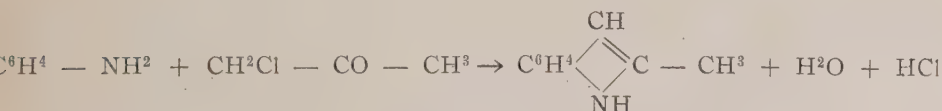
en amine.

D) Les amines phénoliques réagissent sur les chloro ou bromocétones 1-2 pour donner, avec élimination d'eau et d'hydracide, naissance à des homologues de l'indol:

1° Condensation de l'aniline avec la monochloraldéhyde:



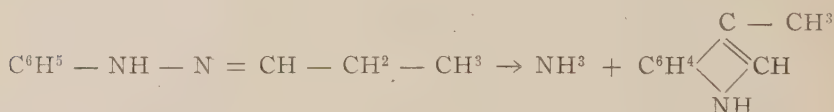
2° La chloropropanone, avec l'aniline, donne le méthylindol:



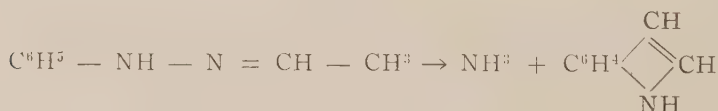
On peut supposer que dans une première phase l'atome hologéné s'élimine avec un atome d'hydrogène du noyau de l'amine en position ortho; on retombe alors dans le cas précédent.

E) E. FISCHER, en collaboration avec HESSE (1884) a donné une méthode de synthèse tout à fait générale, permettant de préparer avec un très bon rendement, de nombreux dérivés de l'indol: en chauffant les phénylhydrazones des aldéhydes, des cétones, ou des acides cétones 1-2 à 180° avec HCl ou ZnCl<sup>2</sup>, on obtient, par perte de NH<sup>3</sup>, des homologues de l'indol.

La phénylhydrazone de l'aldéhyde propylique donne le méthyl 3 indol:

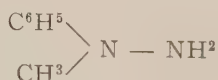


En partant de la phénylhydrazone de l'acétaldéhyde, on obtient l'indol lui-même:

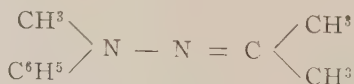


Les hydrazones dérivées des hydrazines secondaires dissymétriques donnent des indols substitués à l'azote:

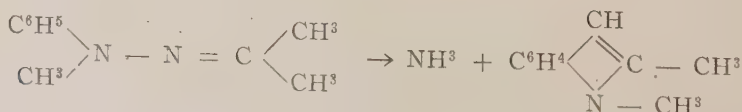
soit l'hydrazone obtenue par action de l'acétone CH<sup>3</sup>.CO.CH<sup>3</sup> sur le méthylphénylhydrazine:



et qui a pour formule:



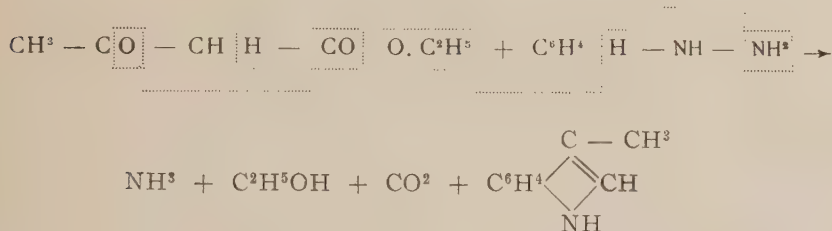
on obtiendra:



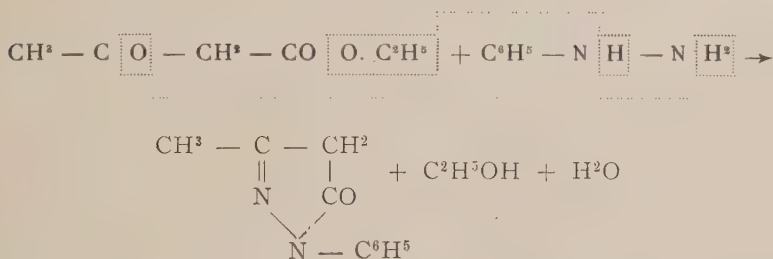
On peut rattacher à ce procédé de FISCHEL deux réactions de formation des corps indoliques :

1° Les éthers  $\beta$  cétoniques chauffés avec la phénylhydrazine en présence de  $\text{SO}^4 \text{H}^2$  donnent parfois des corps indoliques, mais il se forme le plus souvent des pyrazolones. Cette réaction diffère de celle des pyrazolones en ceci, qu'elle se fait avec élimination de  $\text{NH}^3$ , élimination qui n'a pas lieu dans la réaction des pyrazolones.

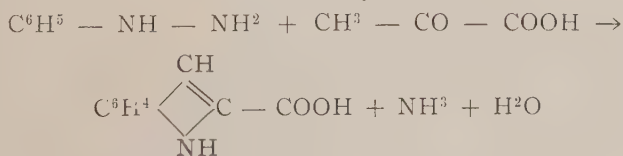
On pourrait schématiquement représenter la réaction de formation de corps indoliques de façon suivante :



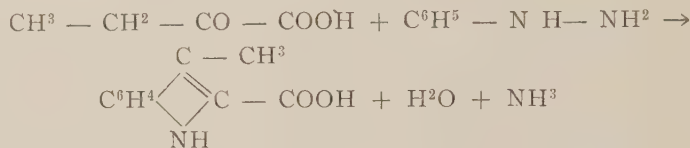
alors que la réaction des pyrazolones, réaction qui mène à l'antipyrine, s'écrit :



2° Les acides cétoniques, tels que l'acide pyruvique,  $\text{CH}^3\text{-CO-COOH}$ , réagissent sur la phénylhydrazine et sur ses dérivés monosubstitués dissymétriques en présence de  $\text{HCl}$ ,  $\text{SO}^4\text{H}^2$ ,  $\text{PO}^4 \text{H}^3$  et donnent des dérivés de l'indol à fonction acide :



Théoriquement on peut préparer des dérivés de cet acide qui est l'acide indolcarbonique :



acide méthyl 3 — indolcarbonique 2 ou skatolcarbonique

Jusqu'ici, nous avons créé le noyau indol, mais toujours en partant d'un noyau benzénique auquel nous accolons par des procédés variables le noyau pyrrol. Mais on peut former le noyau indol grâce à des remaniements moléculaires aux dépens d'autres noyaux que le noyau benzénique.

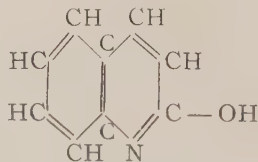
F) La réduction du binitronaphtalène fournit des traces d'indol.

G) Le pyrrol, traité par H Cl et  $\text{SO}^4\text{H}^2$  et additionné d'un grand excès d'alcool, puis distillé dans un courant de vapeur d'eau donne des quantités importantes d'indol.

H) La strychnine distillée avec KOH donne un peu d'indol.

I) Certains dérivés quinoléïques peuvent perdre l'un des chaînons carbonés de leur cycle azoté et on retombe alors du cycle hexagonal au cycle pentagonal, c'est-à-dire de la quinoléïne sur l'indol.

1° La fusion du carbostyrile avec KOH donne de l'indol (le carbostyrile est la 2 — oxyquinoléïne) :



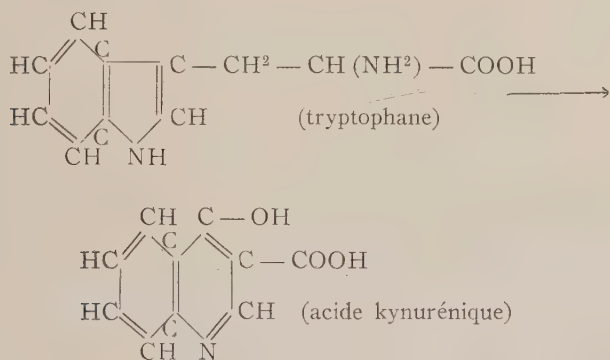
c'est un corps qui possède le double caractère de base et de phénol.

2° La distillation de l'acide acridique avec la chaux.

3° Distillation d'acide leucolique en présence de la glycérine.

4° A haute température, la tétrahydroquinoléïne perd  $\text{CH}^4$  et donne de l'indol.

Ce mode de formation d'indol aux dépens de dérivés quinoléiques présente un intérêt physiologique, parce qu'il représente l'inverse de la curieuse propriété que possède l'organisme du chien, en particulier, d'incorporer un carbone cyclique au noyau indolique, créant ainsi un corps quinoléique : transformation du tryptophane en acide kynurénique. ELLINGER découvrit que le tryptophane qu'on injectait sous la peau était excrété dans l'urine sous forme d'acide kynurénique qu'on avait découvert dans l'urine du chien, mais dont on ignorait la provenance. La synthèse qu'en fit CAMPS permit de lui attribuer la constitution d'un acide  $\gamma$  oxy  $\beta$  quinoline-carbonique. Le passage du tryptophane à l'acide kynurénique se fait évidemment par séparation de  $\text{NH}^3$ , oxydation partielle et inclusion d'un C latéral dans le noyau :



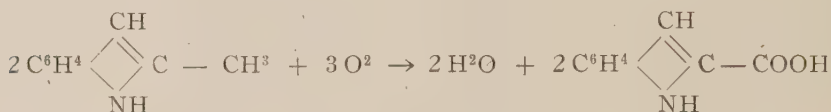
Nous assistons ici à la transformation d'un cycle pyrrolique en un cycle pyridique.

Il faut ouvrir une parenthèse pour un mode d'obtention de l'indol : son extraction des matières fécales. Bornons nous à donner simplement ici l'exposé de la technique de BRIEGER (1877) « Cinq kilos d'excréments délayés dans l'eau pour obtenir une bouillie claire qu'on acidule par 200 cm<sup>3</sup> de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  pour fixer les bases. Distiller au bain de sable jusqu'à ce qu'il passe un tiers du volume. L'indol est passé entièrement dans le distillat. On sature alors celui-ci par NaOH qui retient les acides gras volatils et les phénols et on distille à nouveau pour obtenir le tiers du volume initial : l'indol et le scatol passent à la distillation. Le liquide aqueux obtenu est agité avec le tiers de son volume d'éther. L'extrait étheré est évaporé on obtient un résidu oléagineux qu'on reprend par une faible quantité d'eau bouillante. Filtrer à chaud. A froid, le skatol précipite,

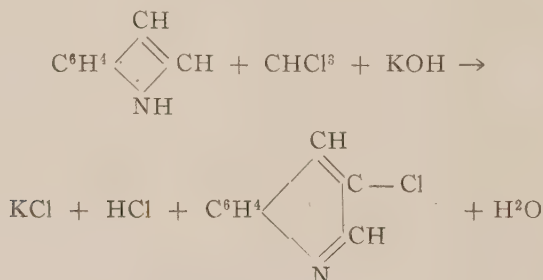
tandis que l'indol reste en solution aqueuse ». Le rendement est faible et la précipitation par l'eau est défectueuse, car il reste toujours du skatol non précipité mélangé à l'indol. Il vaut mieux distiller dans un courant de vapeur d'eau.

## RÉACTIONS ET PROPRIÉTÉS CHIMIQUES

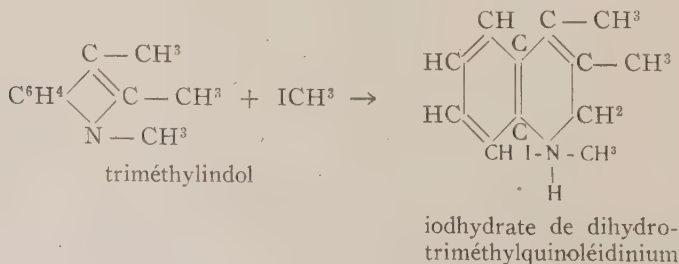
1° L'indol et les indols en général, oxydés par KOH en fusion, donnent des acides correspondants au dérivé employé :



2° Les dérivés indoliques, mis en présence de  $\text{CHCl}^3$  et d'éthylate de sodium, ouvrent leur chaîne et donnent des dérivés chlorés de la phénopyrridine ou quinoléine :

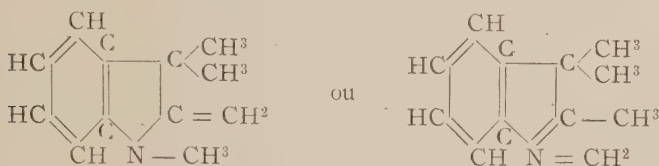


On a cru pendant longtemps que ce passage à la chaîne quinoléique s'effectuait dans les mêmes conditions sous l'influence du méthane-iodure : ainsi l'indol donnait naissance à une triméthyl-dihydroquinoléine ; il y avait d'abord formation de triméthylindol, puis celui-ci ouvrait sa chaîne en donnant une triméthyl-dihydroquinoléine :



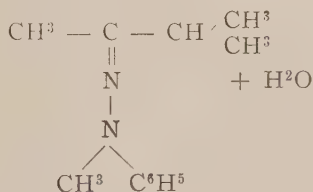
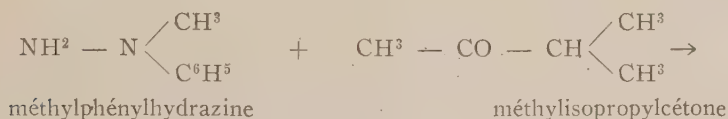
Inversement, cet iodhydrate de triméthyl-dihydroquinoléine chauffé dans un courant de  $\text{CO}^2$  perdait  $\text{IC}^3\text{H}^5$  et formait le triméthylindol 1 - 2 - 3.

En réalité, il n'en est rien, on n'obtient pas, par méthylation un noyau quinoléique, mais un dérivé méthylénique d'un triméthylindol répondant à une des deux formules suivantes :

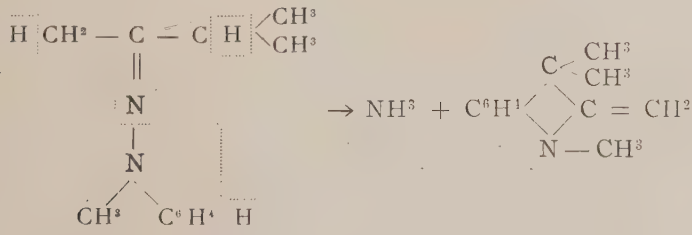


Ce qui contribue à confirmer l'exactitude de ces formules, c'est qu'en traitant par  $\text{ZnCl}^2$  la méthylphénylhydrazine de la méthylisopropylcétone en solution alcoolique à froid, on obtient un dérivé qui, combiné à  $\text{HI}$ , est identique au dérivé iodé préparé à partir de la prétendue dihydro-triméthylquinoléine :

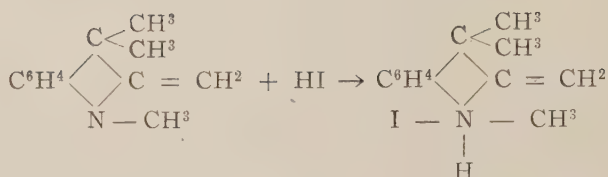
a)



b) Cette phénylhydrazone, traitée par  $\text{Zn Cl}^2$  va perdre  $\text{NH}^3$  (méthode de FISCHER) :



c)

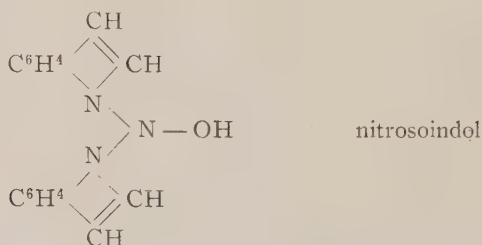


3° L'indol, traité par les acides, se résinifie facilement.

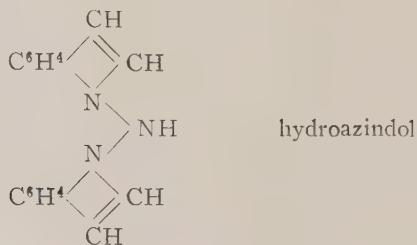
4° Il a une réaction faiblement basique grâce à son groupement bivalent = NH: avec HCl concentré il donne une combinaison difficilement soluble dans l'eau et qui se décompose sous l'action des alcalis, ou par simple ébullition dans l'eau.

Traité par  $\text{SO}^4\text{H}^2$ , il ne donne pas de combinaison, mais il y a départ de  $\text{NH}^3$ .

5° Les dérivés indoliques, non substitués à l'azote, tels que l'indol, donnent avec  $\text{NO}^2\text{H}$  des dérivés nitrosés. En traitant une solution d'indol par une solution de nitrite de soude, on n'observe aucune coloration. Mais si on fait alors tomber goutte à goutte très lentement  $\text{SO}^4\text{H}^2$  concentré dans le liquide, des stries rouge-foncé apparaissent d'abord au sein du liquide qui se colore finalement après agitation, uniformément en rouge cramoisi. Si on a opéré sur une solution aqueuse d'indol, la coloration rouge peut être rassemblée finalement par l'alcool amylique. On obtient ici du nitrosoindol auquel NENCKI donnait pour formule :



Réduit par  $(\text{NH}^4)^2\text{S}$  en solution alcoolique, il donne :



Dans la manipulation ci-dessus indiquée, si au lieu de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  on avait employé  $\text{NO}^3\text{H}$ , on aurait obtenu un précipité rouge de nitrate de nitrosoindol.

Pour rendre la réaction plus sensible, on fait arriver à la surface du liquide contenant l'indol et le nitrite, soit  $\text{SO}^4\text{H}^2$  ou  $\text{NO}^3\text{H}$ , il se forme un anneau coloré en rouge à la surface de séparation.

6° Une solution aqueuse d'indol à 1 p. 1000 traitée par  $\text{NO}^3\text{H}$  exempt de  $\text{NO}^2\text{H}$ , on obtient un trouble blanchâtre qui se dépose sous forme de précipité blanc bleuâtre (E. et H. SALKOWSKI).

7° L'indol donne avec le bisulfite de soude, un composé d'addition: agiter l'indol en solution étherée avec  $\text{SO}^3\text{NaH}$  en solution alcoolique: on a un précipité qui, redissous dans l'alcool méthylique, cristallise, par évaporation, en feuillets blancs. Cette combinaison, traitée par les carbonates alcalins ou par l'ammoniaque, régénère l'indol (procédé de HESSE pour extraire l'indol de l'essence de Jasmin).

8° Une solution aqueuse d'indol additionnée d'anhydride chromique donne un précipité brun-violet foncé, insoluble dans l'éther, le chloroforme et la benzine, soluble dans l'alcool et dans  $\text{HCl}$  concentré en donnant une coloration verte (ENGLER et JANECKE).

9° L'indol, par action de  $\text{Fe Cl}^3$ , donne une poudre verte, non volatile soluble en brun dans l'aniline (LADENBURG).

10° En solution alcaline, il se combine facilement avec le 1-2 naphthoquinone-4-monosulfonate de sodium. La combinaison résulterait de deux molécules d'indol pour une molécule de naphthoquinone et serait un diindolynaphthocétone-monosulfonate: corps cristallisé, gris-bleuâtre, peu soluble dans l'eau, soluble dans le chloroforme qu'il colore en rose et pouvant être enlevé de sa solution aqueuse par ce solvant. Voici la technique de la réaction: ajouter 10 gouttes de solution aqueuse de naphthoquinone-monosulfonate de sodium à une solution d'indol alcalinisée par quelques gouttes de  $\text{KOH}$  à 1 %: on obtient une coloration bleue; attendre dix minutes et extraire par le chloroforme dans lequel la couleur se dissout en rouge,

Contrairement à l'opinion de HERTER et FOSTER, le skatol ne se combine pas à la naphthoquinone (GORTER et GRAFF).

11° Le réactif de LEGAL au nitroprussiate de soude donne une coloration avec l'indol: à 10 cm<sup>3</sup> de solution aqueuse d'indol, ajouter 10 gouttes de solution de nitroprussiate de sodium à 1/20 fraîchement préparée et 5 gouttes de lessive de soude à 30 %. On ne doit pas observer de co-

loration, mais l'addition de 10 gouttes d'acide acétique cristallisable donne une coloration bleu-cobalt. Si on fait arriver l'acide acétique au fond du tube avec une pipette, il se forme un anneau bleu-vert foncé à la limite de séparation (très sensible). Si on opère sur une solution alcoolique d'indol, on observe déjà après addition de soude une coloration qui, selon la concentration est rouge ou violette et que  $\text{CH}^3\text{COOH}$  fait passer au bleu. Pour DÉNIGES, cette réaction est sensible à 1/1.000.000, mais elle n'est pas spécifique étant donnée aussi par les cétones.

12° Réaction avec les aldéhydes : en présence des acides minéraux tels que HCl, par exemple, l'indol se condense avec les corps à fonction aldéhydique ou cétonique ou encore avec les acides complexes capables de réagir fortement par leur groupement — CO. La plupart de ces combinaisons sont douées de pouvoir colorant intense.

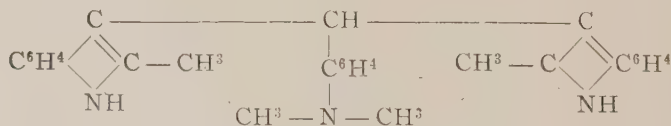
a) Réaction de KONTO avec H-CHO.

C'est la même réaction que pour la recherche d'albumine : traiter une solution diluée d'indol par quelques gouttes de H-CHO et  $\text{SO}^4\text{H}^2$  concentré ; on obtient une coloration rouge-violet et la réaction n'est pas gênée par de petites quantités de skatol.

b) Réaction avec la para-diméthylaminobenzaldéhyde (EHRlich).

Voici la technique d'EHRlich : 10  $\text{cm}^3$  de solution d'indol additionnée de 1  $\text{cm}^3$  solution alcoolique de p. diméthylamino-benzaldéhyde (1 gr. dans 20  $\text{cm}^3$  d'alcool à 95°) ; agiter (si on a opéré sur une solution aqueuse d'indol, il y a un trouble blanchâtre qui ne gêne pas). Dans le fond du tube, faire arriver lentement par une pipette effilée HCl fort ; à la surface de séparation des deux liquides apparaît un anneau rouge intense s'estompant vers le haut comme vers le bas. Si la solution d'indol est concentrée, on a un précipité cramoisi de grand pouvoir tinctorial.

Il se forme un produit de condensation que FREUND et LEBACH ont trouvé être le méthylcétol et auquel ils donnent pour formule :



Ce serait d'après GORTER, une réaction sensible à 1/10.000.000, la plus sensible, et qui peut servir au dosage colorimétrique. La couleur rouge est soluble dans l'alcool amylique qui l'enlève, par agitation, à sa solution aqueuse. GAUTIER et HERVIEUX ont remarqué, sans pouvoir en déterminer

la raison, que la solution alcoolique récente de p. diméthylaminobenzaldéhyde ne donne pas une coloration aussi nette que la solution ancienne.

BÖHME modifie la technique d'EHRlich en ajoutant une solution saturée de persulfate de potassium ce qui donne simplement une coloration plus foncée.

La réaction d'EHRlich pour l'indol n'est pas spécifique (1) : elle a lieu avec les homologues de l'indol et même avec le pyrrol. Cl GAUTIER a signalé une coloration orangée avec l'antipyrine, couleur insoluble dans l'éther, partiellement en rose-orangé dans l'alcool amylique, insoluble dans la benzine (*Soc. biol.*, 28 juil. 1918). Si on veut avoir une certitude avec la réaction d'EHRlich, il faut examiner le liquide au spectroscope :

Avec l'indol la couleur rouge obtenue en solution amylique sous une épaisseur de 5 millimètres donne un spectre caractérisé par une bande dans le jaune vert entre  $\lambda = 582$  et  $\lambda = 543$ .

Avec le skatol, on a deux bandes, l'une très nette dans le rouge entre  $\lambda = 643$  et  $\lambda = 620$ , l'autre moins nette dans le jaune entre  $\lambda = 589$  et  $\lambda = 570$ .

c) Réaction avec la vanilline (DENIGES).

5 grammes de vanilline dissous dans 100 cm<sup>3</sup> d'alcool à 95°. Prendre 2 à 3/10 de cm<sup>3</sup> de cette solution qu'on mélange à une solution très étendue d'indol ; ajouter goutte à goutte HCl pur et agiter après chaque addition. On obtient d'abord une coloration rose ; si on chauffe, à ce moment la couleur fonce rapidement mais pâlit par refroidissement. Au lieu de chauffer, si on continue à ajouter HCl, on a une teinte orangée ; puis rouge orangée quand on ajoute 2 cm<sup>3</sup> d'acide. Cette réaction est aussi sensible que la réaction d'EHRlich.

Avec l'aldéhyde cinnamique, on a dans les mêmes conditions une coloration jaune rouge (DENIGES).

d) Avec le furfurol (EXALLON et SICRE *C. R. Soc. biol.*, p. 507, 1908).

10 cm<sup>3</sup> de solution d'indol additionné de 2 à 3 cm<sup>3</sup> solution alcoolique à 1/50 de furfurol. Agiter et ajouter H Cl goutte à goutte jusqu'à coloration jaune orangé qui fonce rapidement et devient d'un brun verdâtre intense.

---

(1) BAUER a montré que l'urobilinogène donne également la réaction d'Ehrlich. D'après lui, c'est à cette substance qu'il faudrait attribuer la réaction d'Ehrlich observée directement sur l'urine ainsi que la part principale de la réaction dans l'extrait alcoolique des fèces (*Centralblatt F. in Médisier*, 1905, N° 34, 1906, N° 2).

A l'intensité près cette réaction est donnée par les sucres capables de fournir du furfurol.

On a signalé toute une liste de corps aldéhydiques réagissant avec l'indol, mais d'une façon générale, les colorations données par les aldéhydes aromatiques sont plus vives qu'avec les aldéhydes grasses.

13° Réaction du copeau de sapin chlorhydrique.

Un copeau de sapin imbibé d'acide chlorhydrique fumant et arrosé avec quelques gouttes de solution alcoolique d'indol donne une coloration rouge intense, légèrement violacée. La même réaction est donnée par le skatol, mais pas par le diméthylindol ni par les dérivés dont les deux sommets carbonés du noyau pyrrol possèdent des chaînes latérales et on ignore à quoi elle est due.

14° Une trace d'indol chauffé avec l'acide oxalique donne un sublimé et un produit de fusion possédant tous deux une coloration rouge pourpre qui se conserve en liqueur aqueuse et n'est pas modifiée par les lessives alcalines.

Les acides malonique et succinique donnent avec l'indol, dans les mêmes conditions, des produits faiblement colorés en rouge, mais la couleur s'accroît avec les homologues de l'indol.

15° Formation de produits d'addition bien cristallisés avec l'indol.

Nous avons déjà signalé plus haut les dérivés formés avec le bisulfite et la naphthoquinone-sulfonate de potasse.

a) L'acide picrique en solution benzénique chaude ajouté à une solution benzénique chaude d'indol donne une combinaison molécule à molécule et par refroidissement ou évaporation, on obtient de longues aiguilles rouge vif, très brillantes de picrate d'indol  $C^8H^7N$ .  $C^6H^3(NO^2)^3$ . OH. Ce corps est difficilement soluble dans la benzine et le sulfure de carbone froids, très soluble dans la benzine bouillante, presque insoluble dans la ligroïne.

Tous les indols donnent facilement des picrates. Le picrate d'indol est détruit par chauffage en présence de lessive de soude sans régénérer l'indol; le picrate de skatol est simplement décomposé avec mise en liberté du skatol (BÉYER).

b) Avec le trinitrobenzène symétrique (ROMBURGH).

Une solution alcoolique d'indol mélangée à une solution alcoolique de trinitrobenzène donne un précipité jaune d'or apparaissant surtout quand

l'alcool s'évapore et dont le point de fusion est  $187^{\circ}$ . La combinaison se fait molécule à molécule.

C'est une réaction qui n'est pas très sensible.

Le skatol, dans les mêmes conditions, donne un précipité rouge foncé cristallisé, se formant plus rapidement et fondant à  $183^{\circ}$ .

c) Une solution aqueuse ou alcoolique d'indol traitée par un excès de solution aqueuse ou alcoolique saturée de bichlorure de mercure donne un précipité blanc grenu entraînant tout l'indol sous forme de combinaison ne présentant pas l'odeur d'indol.

Pour HERVIEUX, c'est une réaction très sensible donnant un moyen de différenciation pour l'indol et le skatol, ce dernier ne donnant aucun précipité; même au bout de quelques jours, il ne se produit qu'un très faible dépôt coloré en brun.

---



## CHAPITRE II

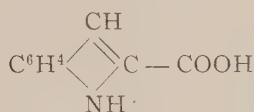
---

# ACIDES INDOLCARBONIQUES

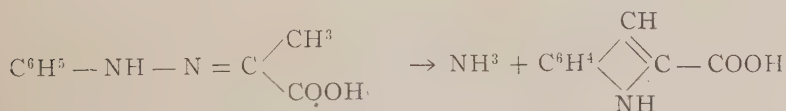
---

On en connaît deux :

ACIDE 2 — INDOLCARBONIQUE OU  
 $\alpha$  INDOLCARBONIQUE



s'obtient en oxydant le méthylindol correspondant (méthylcétol) ou encore au moyen de la phénylhydrazone de l'acide pyruvique  $\text{CH}^3 - \text{CO} - \text{COOH}$  qu'on traite par  $\text{Zn Cl}^2$  :



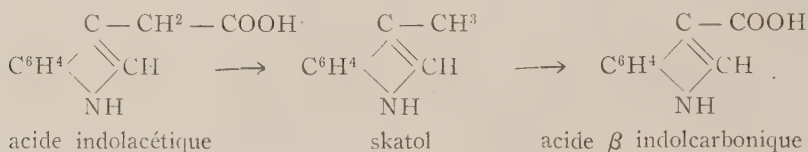
L'acide indolcarbonique est un solide fondant à  $200^\circ$ . Ce n'est pas un corps biologique. Il est très stable, même à température de volatilisation, à  $220^\circ$ .

# ACIDE $\beta$ INDOLCARBONIQUE OU 3 — INDOLCARBONIQUE

Provient régulièrement de l'oxydation du skatol :



Au cours de la putréfaction des albuminoïdes, c'est le stade avant l'indol :



On n'a pas encore pu l'isoler des produits de putréfaction, mais il est certain qu'il s'y forme : c'est le corps indologène par excellence des liquides biologiques ou de culture.

C'est un produit peu stable donnant facilement de l'indol par perte de  $\text{CO}^2$  : c'est ce qui explique que bien des liquides biologiques, exempts d'indol libre cependant, dégagent des vapeurs d'indol quand on les distille lentement après les avoir légèrement acidifiés. Cette fragilité est sans doute la raison qui explique qu'on n'a pas encore pu l'isoler dans les putréfactions.

Par chauffage modéré, il peut se sublimer en partie, mais par chauffage brusque, il se décompose. Se décompose également par ébullition de la solution aqueuse.

CIAMICIAN et ZATTI l'ont obtenu par fusion d'une partie de skatol et de dix parties de KOH.

ZATTI et FERRANTINI en ont fait la synthèse en chauffant pendant 3 à 4 heures d'abord à  $280^\circ$  puis à  $300^\circ$ , 5 parties d'indol avec une partie de sodium dans un courant de  $\text{CO}^2$ .

Se présente en feuillets cristallins incolores ; peu soluble dans l'eau bouillante et dans la benzine, plus soluble dans l'alcool, l'éther, l'éther acétique — presque insoluble dans l'éther de pétrole.

Fond à  $218^\circ$  en se décomposant en indol et  $\text{CO}^2$ .

## CHAPITRE III

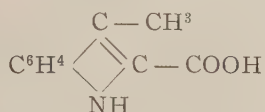
---

# ACIDE INDOLACÉTIQUE

---

ELLINGER en fit la synthèse au moyen de la phénylhydrazone de l'acide  $\beta$  aldéhydopropionique (butanalöique).

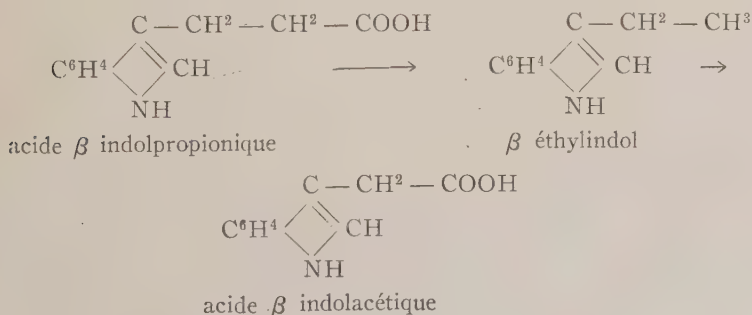
Il s'obtient en épuisant par l'éther les liquides albumineux en voie de putréfaction. Les frères SALKOWSKI avaient déjà remarqué cette chose et comme le produit qu'ils avaient ainsi obtenu donnait facilement du skatol par perte de  $\text{CO}^2$ , ils en avaient conclu que c'était un acide skatol-carbonique de formule :



Mais WISLICENIUS et ARNOLD, faisant en 1888 la synthèse de l'acide skatolcarbonique à partir de la phénylhydrazone de l'acide propionylformique (butanone — 2 oïque) virent que le corps obtenu avait des propriétés différentes du corps isolé par les SALKOWSKI.

C'est finalement la synthèse d'ELLINGER qui mit la chose au point et montra que le produit obtenu — après purification par extraction éthérée des liquides albumineux dont la fermentation s'ébauche — est bien l'acide indolacétique et non pas skatolcarbonique, le produit de synthèse ayant exactement les mêmes propriétés que celui des SALKOWSKI.

Le processus putréfactif aboutissant à la formation de l'acide indolacétique peut se schématiser de la façon suivante :



### *Propriétés*

Petits feuillets cristallins, incolores, fondant à 164-165°, facilement solubles dans l'alcool et l'éther, très peu solubles dans l'eau froide, plus facilement solubles dans l'eau chaude.

Presque pas volatil, même dans un courant de vapeur d'eau; toutefois, la distillation prolongée en laisse passer des traces suffisantes pour montrer ses réactions colorées.

Les sels alcalins sont solubles dans l'eau et sont assez stables en solution.

Chauffé au dessus de son point de fusion ou en solution, se décompose en donnant  $\text{CO}^2$  et du skatol. En même temps (dans le cas de la solution) il se forme une couleur rouge pourpre qui est peut-être un produit d'oxydation ou de condensation du skatol.

### *Réactions*

1° Dans une solution d'acide indolacétique à 1/1000, verser quelques gouttes d'acide azotique de densité 1, 2, puis quelques gouttes de solution de nitrite de potasse à 2 % : le liquide se colore assez rapidement en rouge cerise, puis se trouble et laisse déposer une couleur brique. Cette couleur passe dans l'éther acétique et plus facilement encore dans l'alcool amylique, mais pas du tout dans l'éther, la benzine ni le chloroforme.

Cette couleur ressemble au nitrosoindol, mais en diffère cependant : si on chauffe une solution alcoolique de nitrosoindol étendue de son volume d'eau avec NaOH et du zinc pulvérisé, elle se décolore, mais le liquide filtré se recolore à l'air en bleu intense. La même décoloration se produit bien avec la couleur dérivée de l'acide indolacétique, mais le liquide ne se recolore jamais.

2) Une solution aqueuse (1/1000) d'acide indolacétique ou de ses sels à laquelle on ajoute un volume égal de HCl (d: 1,2) et quelques gouttes de solution de chlorure de chaux à 2 % se colore peu à peu en rouge pourpre et, par le repos, laisse déposer un précipité rouge pourpre soluble dans l'alcool et passant entièrement dans l'alcool amylique, insoluble dans l'éther, la benzine et le chloroforme.

3) Ajouter  $\text{Fe Cl}^3$  en solution étendue à une solution d'acide indolacétique à 1/1000; à froid, on ne remarque rien, mais en chauffant légèrement, le liquide devient gris bleu sale. Si on acidifie alors par HCl, il se forme un précipité violet gris qui, recueilli sur un filtre et lavé, se dissout facilement dans l'alcool avec coloration rouge à reflets bleuâtres. Si

on ajoute tout d'abord quelques gouttes de  $\text{H Cl}$  à la solution d'acide indolacétique, puis un peu de  $\text{Fe Cl}^3$  très dilué et qu'on chauffe à l'ébullition, le liquide se colore en rouge cerise — réaction très intense et très sensible.

Les trois réactions précédentes reposant sur des phénomènes d'oxydation et aboutissant à la formation de produit rouge, il est permis de se demander s'il n'y aurait pas identité entre leurs produits.

4° L'acide indolacétique donne avec intensité la réaction xanthoprotéique.

5° Il donne nettement la réaction d'ADAMKIEWICZ: coloration violette avec  $\text{SO}^4\text{H}^2$  et  $\text{CH}^3\text{—COOH}$  glacial.

Nous nous sommes arrêté longuement à cet acide, car il possède un certain intérêt biologique, HERTER ayant émis l'opinion qu'il constituait le chromogène de l'uroroséine.

---



## CHAPITRE IV

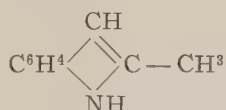
---

# MÉTHYLINDOLS

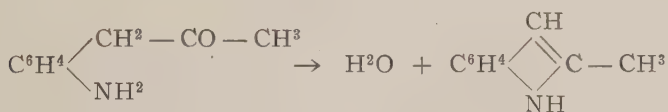
---

Il existe deux isomères :

$\alpha$  METHYLINDOL OU METHYLCETOL



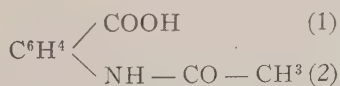
qui est obtenu par les procédés de préparation des indols que nous avons décrits plus haut : deshydratation de la propylonephenylamine :



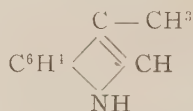
Le méthylcétol fond à 69°.

Fondu avec les alcalis, il donne un acide monobasique correspondant : l'acide  $\alpha$  indolcarbonique.

Oxydé par le **permanganate**, la chaîne s'ouvre à l'endroit de la double liaison et fournit l'acide éthanoylamidobenzoïque :



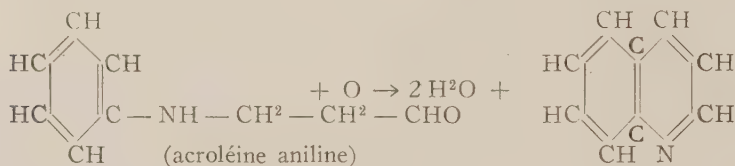
$\beta$  METHYLINDOL OU SKATOL



I. — FORMATION SYNTHÉTIQUE

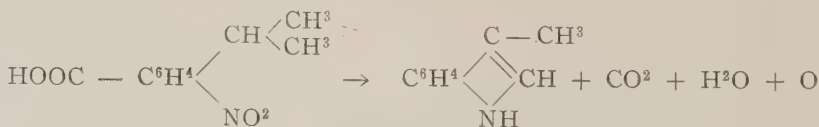
1° FISCHER et GERMANN chauffent un mélange d'aniline et de glycérine avec du chlorure de zinc, d'abord à 160-170° puis à 240°; ils distillent ensuite à la vapeur d'eau.

La greffe de la molécule de la glycérine sur l'aniline donne un noyau quinoléique: la glycérine donne naissance à l'acroléine  $\text{CHO} - \text{CH} = \text{CH}^2$ , qui, par ouverture de sa double liaison, fixe une molécule d'aniline et donne l'acroléine-aniline; celle-ci par déshydratation et oxydation donne la quinoléine:

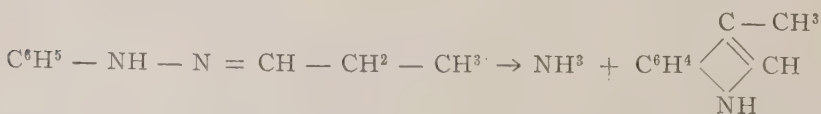


Ce noyau quinoléique ainsi formé possède un C porté à s'extérioriser hors du noyau: c'est ce C qui donne le C latéral du skatol.

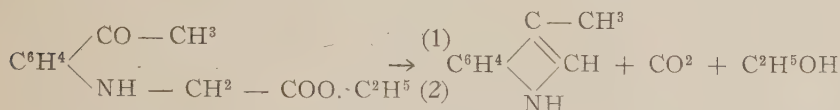
2° Calcination du nitrocuminate de baryum avec des fils de fer. Le rendement est meilleur si on distille le mélange de sels de baryum des acides aminocuminique et nitrocuminique avec la poudre de zinc:



3° Synthèse de FISCHER: la phenylhydrazone de l'aldéhyde propionique, traitée par  $\text{Zn Cl}^2$ :



4° Le chauffage de la chaux sodée avec l'ortho-acétylanilidoacétate d'éthyle (obtenu par condensation du bromoacétate d'éthyle avec l'ortho-amino-acétophénone).



Si on chauffe le même corps dans du toluène avec du sodium en fils, en obtient non seulement du skatol mais de l'acide skatolcarbonique par fixation  $\text{CO}^2$  en  $\alpha$ .

Cette méthode rentre dans le mode général de préparation de l'indol et ses dérivés à partir des amines phénoliques à fonction aldéhyde ou cétone.

## II. — FORMATION A PARTIR DES MATIÈRES ALBUMINOÏDES

Le skatol se forme dans la putréfaction des albuminoïdes et peut alors accompagner l'indol. Mais les deux corps, bien qu'étant voisins, ne coexistent pas obligatoirement dans les milieux de putréfaction, car les conditions de production de skatol sont différentes de celles de l'indol.

On peut encore obtenir le skatol à partir des matières albuminoïdes sans passer par la putréfaction: il suffit de chauffer les albumines avec un grand excès de  $\text{KOH}$ ; on n'obtient pas ainsi, du skatol pur, mais une série de corps indoliques d'où on doit séparer le skatol.

Rappelons que par chauffage de l'acide indolacétique, on obtient du skatol et de l'anhydride carbonique.

La réduction de l'indigo végétal avec l'étain et  $\text{HCl}$  et la distillation du produit avec un grand excès de zinc pulvérisé donne de l'indol mélangé à un peu de skatol, il suffit de les séparer.

### *Propriétés*

Cristallise en petits feuillets brillants, incolores, fondant à  $95^\circ$ ; bout à  $265\text{--}266^\circ$  sous 755 millimètres de mercure.

On peut le distiller dans un courant de vapeur d'eau.

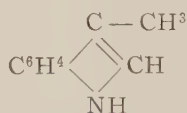
Il est soluble dans l'alcool et dans l'éther, plus difficilement soluble dans l'eau que l'indol.

C'est une base faible qui se dissout dans l'acide chlorhydrique concentré. Un courant de HCl gazeux passant dans une solution de skatol dans l'éther pur donne un précipité de petites aiguilles de chlorhydrate de skatol:  $2 \text{ C}^9\text{H}^9\text{N} \cdot \text{HCl}$  dont le point de fusion est  $167\text{--}168^\circ$ , insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool.

La solution de skatol dans l'acide acétique glacial, additionnée de  $\text{NO}^2\text{Na}$  donne un dérivé nitrosé.

Il cristallise sans altération dans l'acide azotique étendu.

Chauffé avec l'anhydride acétique et le chlorure de zinc, il donne l'acétylskatol:



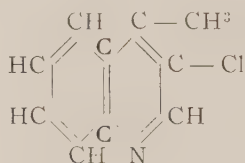
Au rouge, le skatol se décompose en donnant de l'indol.

Par réduction, il donne le dihydroskatol  $\text{C}^9\text{H}^{11}\text{N}$ .

Chauffé en présence de sodium dans un courant de  $\text{CO}^2$ , il donne l'acide skatolcarbonique.

Fondu avec KOH il donne l'acide  $\beta$  indolcarbonique.

Par action du chloroforme et de la potasse caustique sur le skatol, ELLINGER et FLAMAND ont obtenu une chlorométhylquinoléine:



Le skatol possède une odeur fécaloïde caractéristique; celui que BAEYER a obtenu par réduction faisait exception à la règle, particularité à rapprocher de ce qu'il a été dit au sujet de l'odeur de l'indol.

### *Formation de produits d'addition*

1° Avec le trinitrobenzène symétrique, on obtient de fines aiguilles d'un beau rouge, peu solubles dans l'alcool, fondant à  $183^\circ$  — alors que l'indol donne un précipité jaune d'or fondant à  $187^\circ$ .

2° Avec l'acide picrique, on obtient un picrate de skatol se présentant

sous forme d'aiguilles rouges, très peu solubles dans l'eau et résultant d'une combinaison molécule à molécule. On peut à l'aide de ce picrate, extraire le skatol des liquides complexes tels que les liquides putréfactifs et le purifier — le picrate de skatol se décomposant par chauffage, avec la lessive de soude en libérant le skatol, tandis que le picrate d'indol est détruit sans régénérer l'indol.

### *Réactions du skatol*

1) Se dissout dans HCl en donnant une coloration violette.

2) Chauffé en solution avec  $\text{SO}^4\text{H}^2$  concentré, il donne une magnifique coloration rouge pourpre.

3) Traité par  $\text{NO}^3\text{H}$  pur, se colore en jaune intense (Réaction xantho-protéique).

Ces trois réactions sont générales aux albuminoïdes et sont dues, dans ces corps, aux dérivés du noyau indol (albuminoïdes tryptophaniques).

4) En présence des acides minéraux, il se condense avec les aldéhydes en donnant des produits de coloration très intense.

a) A une solution étendue de skatol, ajouter une solution alcoolique de benzaldéhyde à 1 % ; faire arriver au fond du verre une couche de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  étendu contenant du sulfate ferrique ; on voit au bout de quelque temps une zone bleu violet, s'élargissant de plus en plus, se former à la limite de séparation. La couleur est détruite par les bases et reparait par les acides.

b) Ajouter à une solution de skatol une goutte de furfurol et mettre en contact avec  $\text{SO}^4\text{H}^2$  concentré : une coloration brun rougeâtre se développe.

5) Le skatol ne donne pas la réaction du copeau de sapin chlorhydrique, mais si on imbibe un copeau de pin d'une solution de skatol dans l'alcool étendu et qu'on le plonge ensuite dans HCl concentré, le copeau devient peu à peu rouge cerise et plus tard bleu violet.

6) En présence de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  concentré, le skatol donne avec l'acétone ou mieux avec l'alcool méthylique un produit de condensation coloré : dans un tube placer 3  $\text{cm}^3$  de solution étendue de skatol et ajouter 3 gouttes d'alcool méthylique ; introduire alors à la base avec de grandes précautions une couche de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  de même épaisseur : il se forme à la surface de séparation, un anneau rouge violet sensible jusqu'à dilution à

1/1.000.000. Si après quelques minutes de repos on mélange doucement les deux couches, tout le liquide devient rouge violet. Cette réaction est propre au skatol: l'indol, le méthylcétol et le tryptophane ne la donnent pas (TAKOAKI SASAKI, *Biochem. Zeit.*, 23.402, 1910).

### *Différenciation de l'indol et du skatol*

1) Par  $\text{HCl}$  et  $\text{SO}^4\text{H}^2$  concentré, le skatol se colore en rouge alors que l'indol ne se colore pas.

2) Avec l'eau de chlore ou  $\text{NO}^2\text{Na}$ , le skatol ne donne aucune coloration. — Dans ces mêmes conditions, l'indol se colore en rouge.

3) Avec le chlorure mercurique, le skatol ne donne rien, l'indol donnant un précipité blanc.

4) La naphtoquinone-monosulfonate de sodium donne un produit d'addition avec l'indol et rien avec skatol.

5) La réaction d'EHRlich avec le skatol donne une coloration qui devient rapidement d'un beau violet et d'un bleu très stable après quelques heures. Pour des concentrations élevées, la teinte bleue est précédée d'une teinte verte longtemps persistante.

Mais la différenciation la plus juste réside dans l'examen du spectre (voir plus haut).

6) Avec la vaniline, le skatol ne donne d'abord qu'une coloration faiblement jaunâtre ou jaune rosé très léger, mais la teinte fonce et après quelques heures, elle est d'un beau violet très intense qui permet de déceler le skatol jusqu'à 1/1.000.000 (DENIGES).

L'indol donne avec ce réactif une teinte rouge éosine persistant de longues heures et tendant vers le rouge bordeaux avec fluorescence bleu violet.

Les nitrites font pâlir et jaunir la couleur indolique, tandis qu'ils font virer au bleu la couleur skatolique.

7) La couleur rouge violet obtenue en condensant le skatol avec l'alcool méthylique en présence de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  n'est pas donnée par l'indol.

### *Séparation de l'indol et du skatol*

A. — Différence de solubilité.

L'indol est plus soluble dans l'eau froide que le skatol.

Voici la technique de SALKOWSKI pour séparer l'indol et le skatol que

l'éther a enlevés aux liqueurs aqueuses: le résidu d'évaporation de l'éther est dissous dans une petite quantité d'alcool fort, filtrer et ajouter un excès d'eau froide: le skatol précipite partiellement; l'autre partie reste en solution avec l'indol. En répétant cette opération, on peut avoir l'indol presque pur mais le rendement est très mauvais.

Ils procèdent encore de la façon suivante, mais également d'un mauvais rendement: le résidu d'évaporation de l'éther est dissous dans une petite quantité d'eau bouillante et on filtre à chaud; à froid, le skatol précipite en paillettes, mais il reste toujours du skatol à côté de l'indol.

#### B. — Formation des picrates.

Le picrate d'indol est décomposé par la lessive de soude à l'ébullition avec destruction de la molécule d'indol. Celui de skatol est dédoublé dans les mêmes conditions en skatol et acide picrique et on sépare alors le skatol par distillation.

Si on distille le picrate en présence de  $\text{NH}^4\text{OH}$ , l'indol et le skatol passent tous les deux à la distillation.

#### C. — Formation du complexe chloromercurique.

La liqueur aqueuse renfermant un mélange d'indol et de skatol est traitée par une solution aqueuse saturée de chlorure mercurique; on a un précipité volumineux avec l'indol alors que le skatol reste en solution. Le précipité est séparé par filtration ou centrifugation. Le précipité après lavage, est traité par le sulfure d'hydrogène après avoir été mis en suspension dans l'eau. L'indol est ainsi régénéré. Quant au skatol, on l'entraîne de la solution aqueuse où il est resté par un courant de vapeur d'eau.

Ce mode de séparation est très sensible (HERVIEUX).

---



## CHAPITRE V

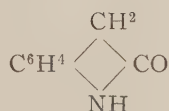
---

# DÉRIVÉS OXYGÉNÉS DE L'INDOL

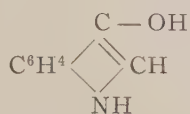
---

On en connaît plusieurs :

$\alpha$  oxindol

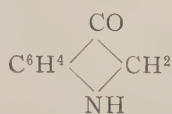


$\beta$  oxindol ou indoxyle, qui peut se représenter de deux façons :



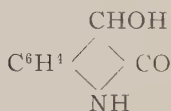
forme phénolique

ou

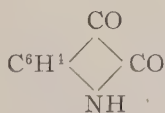


forme cétonique  
(pseudo-indoxyle)

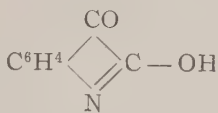
dioxindol



Isatine qui, elle aussi, peut s'écrire de deux façons :

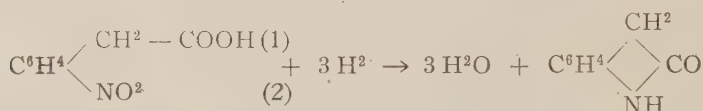


ou



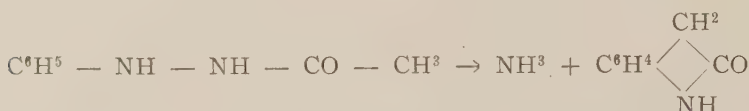
*α* OXINDOL OU OXINDOL 2

S'obtient en réduisant au moyen de l'étain et de l'acide chlorhydrique l'acide ortho-nitrophénylacétique

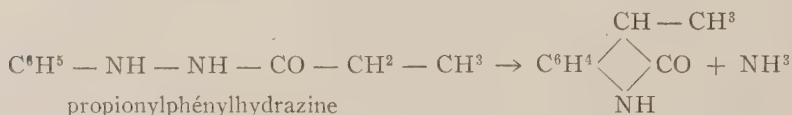


ou encore en réduisant le dioxindol par l'amalgame de sodium.

Enfin, en chauffant à 200-220°. l'acétylphénylhydrazine, il se dégage  $\text{NH}^3$  et on obtient l'oxindol  $\alpha$

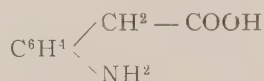


Cette réaction paraît générale, les dérivés acidylés homologues de l'acide acétique fournissant des homologues de l'oxindol en position 3 :



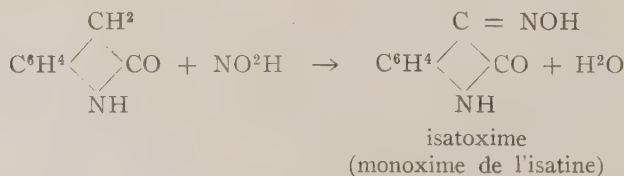
L' $\alpha$  oxindol fond à 120° et se dissout dans l'eau chaude.

C'est en réalité une lactame (amide interne) de l'acide ortho-aminophénylacétique ;



en chauffant l'oxindol avec de la baryte à 150° on régénère le sel de baryum de cet acide.

L'acide azoteux le transforme en oxime :



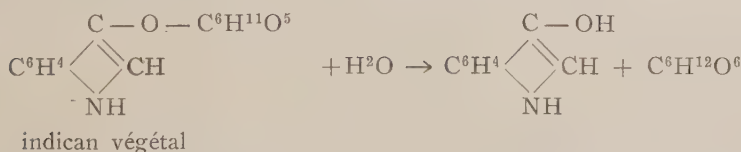
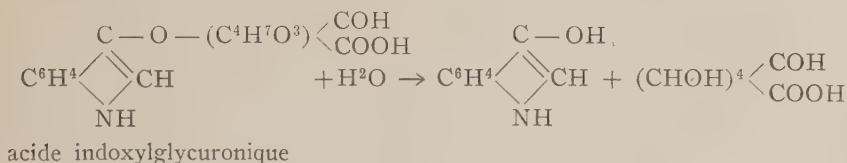
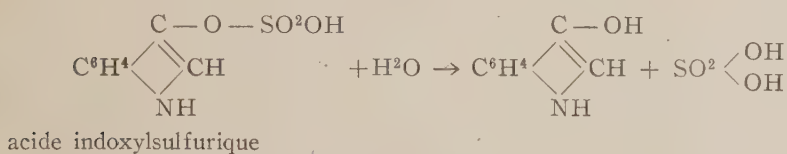
## $\beta$ OXINDOL OU INDOXYLE

C'est un phénol pyrrolique.

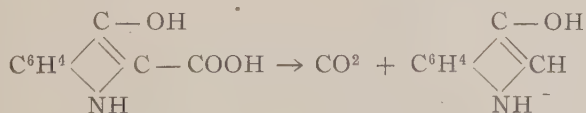
Modes de formation: on peut, comme dans tous les dérivés de l'indol, faire la division de ces procédés en deux groupes:

### A. — A PARTIR DE CORPS POSSÉDANT DÉJÀ LE NOYAU INDOL PRÉFORMÉ

1° Dédoublément hydrolytique des composés naturels de l'indoxyle de structure analogue à celle des éthers:



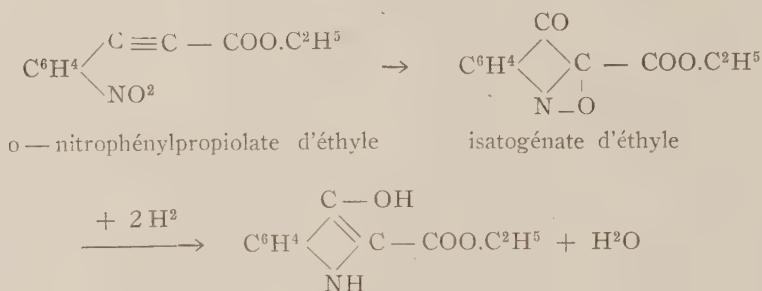
2° Scission de l'acide indoxylcarbonique chauffé au-dessus de son point de fusion, ou encore mieux, bouilli avec de l'eau:



Cet acide indoxylcarbonique s'obtient par diverses voies synthétiques: nous retombons alors ici dans le 2<sup>e</sup> groupe: création du noyau indolique.

a) BAEYER a montrée que l'ortho-nitrophénylpropiolate d'éthyle, en pré-

sence de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  s'isomérise en isatogénate d'éthyle. A son tour, celui-ci est transformé par les réducteurs en indoxylcarbonate d'éthyle :



b) la fusion de phénylglycocolle orthocarboxylé (acide phénylglycine ortho-carbonique) avec des alcalis caustiques donne de l'acide indoxylcarbonique d'où on tire l'indoxyle :



3° Quand on fond de l'indigotine avec de la potasse caustique, il se produit, non pas de l'indigo blanc comme le croyaient GERHARDT et les anciens auteurs, mais bien de l'indoxyle (HEUMANN et BACHOFER, *Berichte, der. chem. Gesel.*, 26-225). Si l'action de l'alcali se prolonge, l'indoxyle lui-même est attaqué et on obtient de l'acide anthranilique et de l'aniline.

4° L'oxydation directe de l'indol donne de l'indoxyle :

NENCKI en 1878 faisant agir l'ozone sur l'indol obtenait de l'indigo, avec un mauvais rendement, il est vrai, car une partie de cet indol était poussée par l'ozone jusqu'au stade d'oxydation de l'isatine. — Au cours de cette opération il y avait nécessairement passage par le stade indoxyle.

PORCHER (*Bull. Soc. chim.* France, 4, t. 5, p. 526), a étudié l'oxydation de l'indol par l'eau oxygénée, les persulfates alcalins et la quinone ; le réactif le plus favorable est l'eau oxygénée à 100 volumes.

« Dans un flacon, introduire 0 gr. 10 d'indol finement pulvérisé, 10 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et 10 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée à 100 volumes. Bien boucher et porter à l'étuve à 37°. On voit au bout d'une heure apparaître le dichroïsme de l'indoxyle alors qu'on voit des masses noirâtres dont l'aspect est dû à des flocons d'indigotine collés sur des cristaux d'indol non encore atta-

qués nageant au sein du liquide. L'oxydation s'est faite sans dégagement d'oxygène : quand on retire le bouchon, il n'y a aucune suppression à l'intérieur. Dans le liquide venant de l'étuve, on enlève l'indoxyle formée par l'alcool amylique et on caractérise l'indoxyle par la formation d'indigo ou par la réaction des indogénides.

« Si on opère à la température du bain-marie bouillant, il faut moins de cinq minutes pour dissoudre tout l'indol. Si l'action se prolonge au-delà d'une demi-heure, le liquide contient de l'isatine qu'on recherche par la réaction de l'indophénine.

« Quand on filtre le liquide sortant de l'étuve pour recueillir l'indoxyle dans le filtrat, sur le filtre il reste des flocons noirs qui sont un mélange de bleu et de rouge avec prédominance du bleu. En opérant au b. m. bouillant, la proportion de rouge est augmentée, mais disparaît ultérieurement. Les flocons sont recueillis et broyés avec de l'éther qui dissout le rouge ; le bleu, entraîné par un phénomène de surface, se sépare.

« On sait qu'en oxydant l'indoxyle, on a toujours un mélange de bleu et de rouge. Ici, il peut y avoir de l'indirubine venant de la copulation de l'indoxyle, premier stade de l'oxydation, avec l'isatine, 2<sup>e</sup> stade. L'indirubine formée disparaît si la réaction se prolonge : chauffer à feu nu au réfrigérant ascendant pendant trois heures 0 gr. 20 d'indol avec 15 cm<sup>3</sup> H<sup>2</sup>O<sup>2</sup> à 100 volumes ; à la fin de réaction il n'y a pas de rouge. »

L'oxydation de l'indol → indoxyle.

Indoxyle  Une partie: indigo bleu.  
Autre partie: isatine (par suroxydation)

isatine + indoxyle → indirubine (qui est oxydée ultérieurement et seul résiste l'indigo bleu).

(L'indirubine très pure de la Badish anilin, traitée au réfrigérant ascendant par l'eau oxygénée, est détruite après 3 heures sans formation d'isatine, mais obtention d'indigo bleu.)

L'isatine oxydée donne de l'aniline.

« L'oxydation de l'indol par l'eau oxygénée avec formation d'abord d'indoxyle et ensuite d'indigo est absolument caractéristique de l'indol ; lui seul, dans la série des indols, est capable de la donner. » (PORCHER).

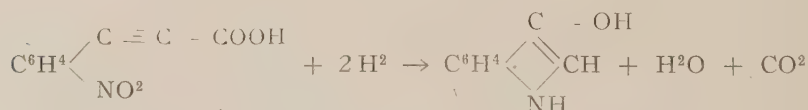
## B. — CRÉATION DU NOYAU INDOL

1) HEUMANN a donné une synthèse: fusion alcaline du phénylglycolle non carboxylé qui fournit directement l'indoxyle sans passer par le stade acide indoxylcarbonique.



Mais c'est surtout une réaction théorique, car le rendement est très mauvais.

2) A partir de corps benzéniques à chaînes latérales convenablement choisies pour former l'anneau pyrrolique, tels que l'acide o-nitrophénylpropiolique, que nous avons vu un peu plus haut s'isomériser pour donner l'isatogénate et finalement l'acide indoxylcarbonique:



C'est un procédé de préparation de l'indigotine: une solution d'acide nitrophénylpropiolique soumise à l'ébullition avec un réducteur organique tel que le glucose, dépasse le stade indoxyle et donne finalement l'indigotine.

Nous aurons l'occasion de voir que l'organisme dispose de cette faculté de réduire en indoxyle l'acide o-nitrophénylpropiolique absorbé.

### *Propriétés physiques*

C'est une huile brunâtre s'épaississant et se résinifiant facilement.

VORLÈNDER et DRESCHER l'ont obtenu à l'état de cristaux jaunes en décomposant l'acide indoxylcarbonique dans un courant de gaz d'éclairage. Il fond à 83°.

Il est soluble dans l'eau, l'alcool, le chloroforme, l'éther, la benzine en donnant des solutions fortement dichroïques perdant cette propriété en présence d'alcalis fixes ou d'excès d'acide chlorhydrique, mais non pas par le carbonate de soude. Il est peu soluble dans l'éther de pétrole.

Il est à peine distillable dans le vide; toutefois il se volatilise sans dé-

composition quand on le chauffe seul ou avec la vapeur d'eau légèrement surchauffée.

Il a un odeur fécaloïde particulière, différente de celle de l'indol et du skatol.

### *Propriétés chimiques*

L'oxydation de l'indoxyle donne des produits différents suivant les conditions du milieu et les oxydants employés.

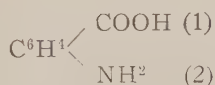
Ménagée, elle donne de l'indigotine toujours mêlée d'indirubine. C'est ce que donnent  $\text{FeCl}^3$ ,  $\text{Cl}$ ,  $\text{Br}$ , à l'état de traces, l'oxygène (et plus rapidement l'oxygène naissant que l'oxygène de l'air en milieu chlorhydrique).

En solution alcaline, l'indoxyle est très sensible vis à vis des oxydants : l'agitation en présence de l'oxygène de l'air suffit en effet à donner de l'indigo et du bleu en prépondérance, mais à l'abri de toute oxydation, la solution alcaline d'indoxyle se conserve longtemps sans s'altérer.

Le chlorate et l'hypobromite de soude, en milieux alcalins, peuvent pousser plus loin l'oxydation en donnant de l'isatine.

La formation d'isatine est constante, même dans les conditions où on obtient principalement du bleu d'indigo, si l'oxydant agit sur l'indoxyle récemment libéré et en quelque sorte à l'état naissant (HERVIEUX, *Thèse doct. sciences*, Paris 1908).

Si l'oxydation est plus accentuée encore, comme dans le cas du permanganate en milieu acide, l'indoxyle est oxydé en acide anthranilique ou ortho amino-benzoïque :



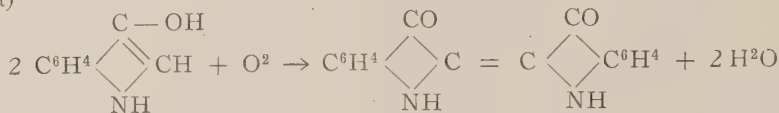
le noyau pyrrol encore entier dans l'isatine, s'ouvre ici en perdant un atome de C sous forme de  $\text{CO}^2$ .

Par chauffage avec la baryte, l'indoxyle donne l'aniline : ici encore, il y a oxydation de l'indoxyle avec formation transitoire d'acide anthranilique qui, par perte de  $\text{CO}^2$  en présence de baryte, a donné l'aniline.

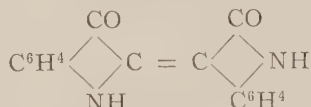
Le brome en solution aqueuse, donne un précipité de tribromoaniline fin et amorphe.

On peut schématiser les stades d'oxydation de l'indoxyle :

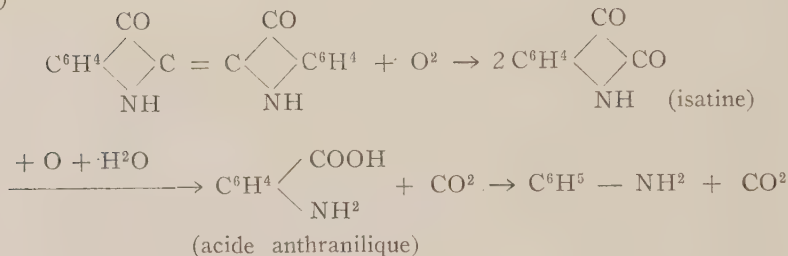
a)



En même temps il se forme une petite quantité d'indirubine :



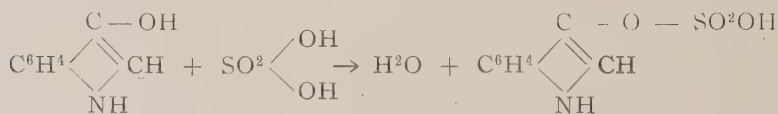
b)



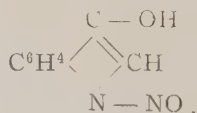
L'indoxyle se comporte comme un corps faiblement acide : c'est pourquoi il s'unit aux alcalis fixes ; c'est son oxhydrile phénolique qui lui donne cette tendance acide. Et le radical  $\text{NH} =$  lui donne d'autre part des propriétés faiblement basiques.

Malgré son  $\text{OH} -$  phénolique, l'analogie avec les phénols est très restreinte : il ne donne aucune des réactions caractéristiques des phénols.

Avec les acides il donne des corps comparables aux éthers sels :

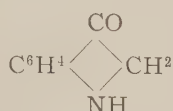


En présence d'un acide et d'un nitrite, il donne du nitrosoindoxyle

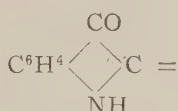


en fines aiguilles jaunâtres (Beyer).

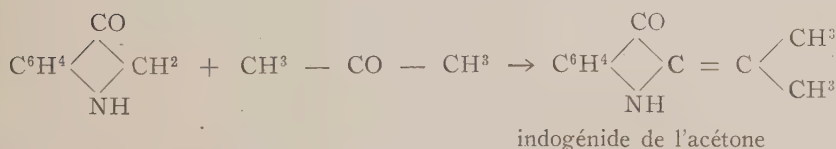
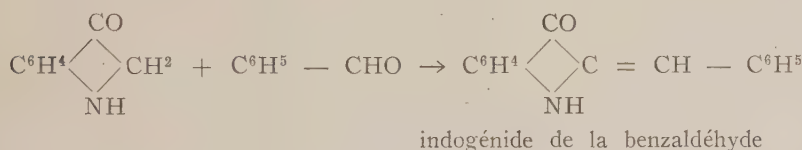
Il se combine aux corps à fonction aldéhyde ou cétone; BÆYER estime qu'il doit alors réagir sous la forme cétonique de pseudoindoxyle :



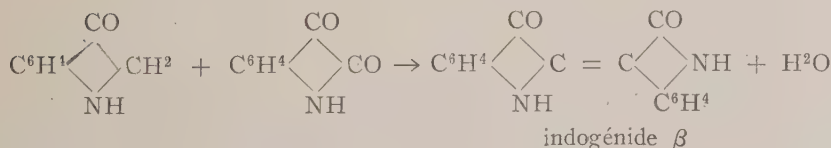
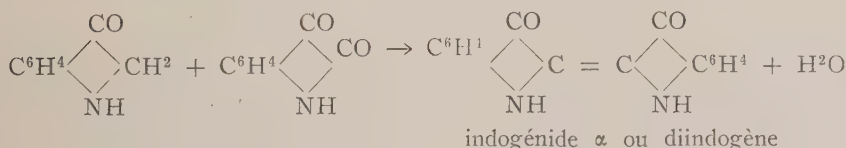
qui est une forme non isolable, H<sup>2</sup> du pseudoindoxyle s'unirait à l'O de l'aldéhyde ou de la cétone avec élimination d'une molécule d'eau pour donner des corps appelés indogénides. Le résidu bivalent



est désigné sous le nom d'indogène.



Les indogénides les plus intéressantes sont celles de l'isatine :



L'appellation  $\alpha$  ou  $\beta$  dépend du sommet de l'isatine qui échange la double liaison avec le carbone actif de l'indoxyle ou plutôt de l'indogène.

## DIOXINDOL OU ACIDE HYDRINDIQUE

Se prépare en réduisant à chaud en liqueur aqueuse l'isatine par la poudre de zinc et l'acide chlorhydrique.

Se présente en prismes incolores, fusibles à  $189^{\circ}$  et se décomposant à une température un peu plus élevée en donnant l'aniline.

Soluble dans douze parties d'eau froide.

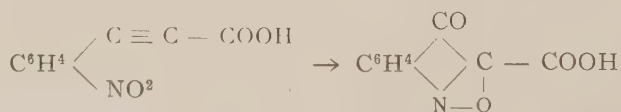
S'unit aux bases et s'oxyde au contact de l'air en donnant de l'isatine.

## ISATINE

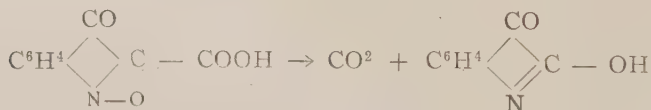
Peut s'écrire sous les deux formes tautomères, mais une seule de ces formes est stable à l'état libre.

A été découverte dans les produits du traitement de l'indigo par l'acide nitrique.

On l'obtient en chauffant avec un alcali l'acide o-nitrophénylpropionique. Dans une première phase, cet acide se transforme en acide isatogénique :



Cet acide isatogénique perd ensuite  $\text{CO}^2$  en donnant l'isatine.



Lorsque la fonction acide est éthérifiée dans l'acide nitrophénylpropionique, la dégradation s'arrête au stade acide indoxylcarbonique (voir plus haut).

S'obtient encore en oxydant l'indoxyle, l'oxindol et le dioxindol par  $\text{FeCl}^3$ .

Industriellement, se prépare par l'oxydation de l'indigo par  $\text{CrO}^3$ .

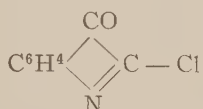
Prismes rouges fusibles à  $201^{\circ}$ . Peu soluble dans l'eau froide, mais soluble dans les alcalis où sa solution, de violacé au début, passe au brun.

Avec le thiophène, donne un corps bleu, l'indophénine; cette réaction sert à déceler la présence de thiophène dans la benzine.

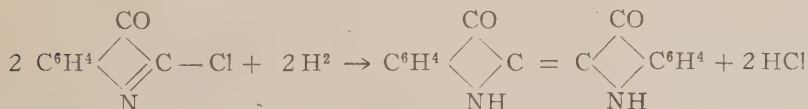


Le furfurane et le pyrrol donnent des produits analogues.

L'isatine en solution benzénique, traitée par le chlorure de phosphore donne du chlorure d'isatyle,



celui-ci, traité par l'acide iodhydrique en solution acétique ou par la poudre de zinc donne l'indigotine.





## CHAPITRE VI

---

# COULEURS INDIGOTIQUES

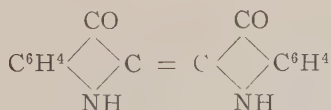
---

L'étude de ce paragraphe nous oblige à anticiper quelque peu et à ne pas respecter tout à fait le plan que nous nous sommes tracé. Logiquement, pour suivre l'ordre biologique, nous aurions dû reporter ce chapitre à la fin de notre travail, les couleurs indigotiques ne prenant naissance à partir de l'indol qu'en dehors de l'organisme. Mais il nous a semblé préférable d'épuiser le côté chimique de la question.

Les couleurs indigotiques étaient connues, depuis fort longtemps et on savait extraire l'indigo des végétaux (*Indigofera* et *Isatis tinctoria*) où il se trouve sous forme d'une glucoside: l'indican végétal. La pourpre des anciens, au point de vue constitution, est très voisine de l'indigo.

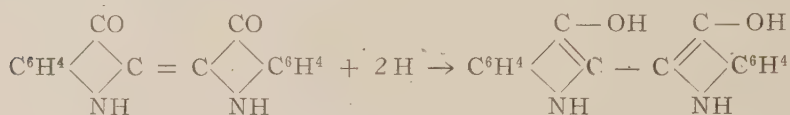
Mais les premières études sérieusement conduites traitant de la constitution chimique de ces couleurs ont été entreprises par BÖYER et son école.

### INDIGOTINE OU BLEU D'INDIGO



Se forme par oxydation au contact de l'air du suc de certaines plantes du groupe des *Indigofera* (*I. tinctoria*, *disperma*, *argentea*, *glabra*, etc..) ou *Isatis* (*I. tinctoria*): l'indican se dédoublant donne l'indigotine. L'indigo ainsi obtenu n'est pas pur, mais renferme à côté d'un mélange d'indigo rouge et de brun d'indigo des matières extractives, des sels et de l'eau. On peut l'obtenir pur en sublimant l'indigo commercial, mais c'est là une opé-

ration délicate et il vaut mieux réduire l'indigo à l'état d'indigo blanc, par le glucose en liqueur sodique ou par le mélange lait de chaux —  $\text{SO}^4\text{Fe}$

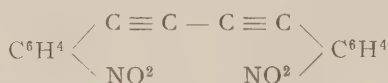


L'indigo blanc, soluble, est purifié et ramené ensuite par oxydation à l'état d'indigo bleu.

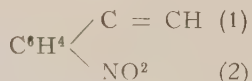
Notons que PIRSCHILE (*Biochem. Zeit.*, t. 136, p. 403, 1923) a tiré de la sublimation de l'indigo du commerce des formes cristallines caractéristiques pour l'indigo bleu et l'indigo rouge.

### Synthèse

L'indigo de synthèse se prépare à partir dinitrophényldiacétylène

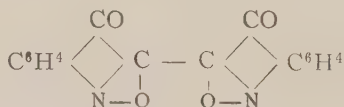


qu'on obtient en oxydant la combinaison cuprique de l'ortho-nitrophényl-acétylène

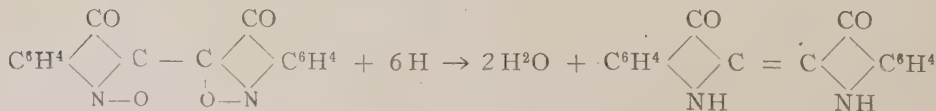


par le ferricyanure de potassium.

Le dinitrophényl-diacétylène est traité par  $\text{SO}^4\text{H}^2$  fumant et fournit le diisatogène:

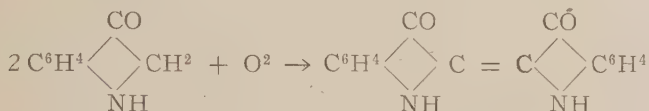


qu'on traite par H naissant pour avoir l'indigo bleu:



Il y a ainsi incertitude sur le mode de saturation des carbones en  $\alpha$  mais on pas sur l'enchaînement : il est logique de croire que le schéma ci-dessus répond à la réalité, les autres synthèses venant appuyer cette façon de penser :

L'indoxyle réagit sous sa forme tautomère cétonique sous l'action de  $\text{FeCl}^3$  et donne l'indigotine :

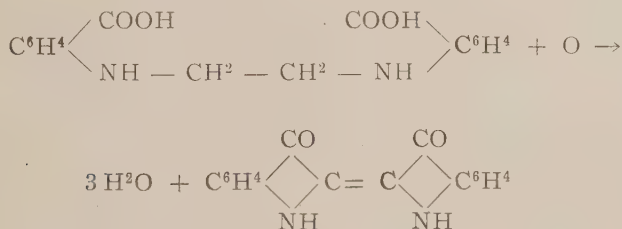


L'ozone agit de la même façon sur l'indol.

Le chlorure d'isatyle, l'acide indoxylque fournissent le même résultat.

La bromoacétanilide ( $\text{C}^6\text{H}^4 - \text{NH} - \text{CO} - \text{CH}^2\text{Br}$ ), fondue avec un alcali, fournit l'indoxyle qui s'oxyde au contact de l'air en donnant l'indigotine.

L'acide éthylène-anthranilique fondu avec KOH donne l'indigotine :



Il y a tout d'abord déshydratation entre les fonctions acides et le groupement  $\text{CH}^2$  puis oxydation par l'oxygène de l'air,

### *Préparations industrielles*

S'inspirent des travaux de HEUMANN :

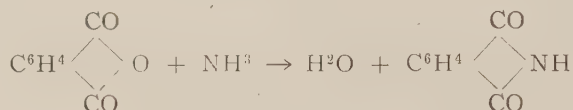
I. — *A partir du phénylglycocolle.* — Chauffer vers 270-280° une partie de phénylglycocolle avec deux parties de soude jusqu'à ce que le mélange ait pris une teinte orangée ; on reprend alors par l'eau et on fait passer un courant d'air : l'indigo précipite.

On peut admettre qu'au premier temps il se forme de l'indoxyle :

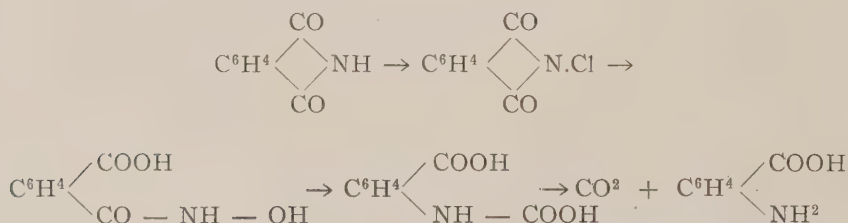


qui s'oxyde à l'air au deuxième temps.

2. — *A partir de la naphthaline.* — La naphthaline, traitée par  $\text{NO}^3\text{H}$  dilué, à l'autoclave à  $130^\circ$  donne l'acide phtalique qui se transforme en anhydride phtalique. Celui-ci chauffé avec  $\text{CO}^3(\text{NH}^4)^2$  donne la phthalimide ;

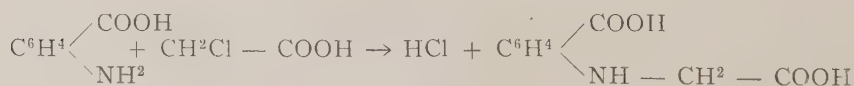


en oxydant la phthalimide par les hypochlorites alcalins, on obtient l'acide anthranilique :



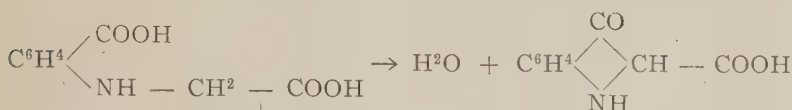
C'est là une application de la réaction d'HOFFMANN ; les imides traitées par les hypobromites ou hypochlorites en liqueur alcaline se comportent comme les acides à fonction amide : cette fonction est attaquée et on obtient un acide à fonction amine renfermant un atome de carbone de moins que l'imide générateur (BEHAL, t. I, p. 883).

L'acide anthranilique, condensé avec l'acide monochloracétique, donne l'acide phénylglycocolle orthocarbonique.

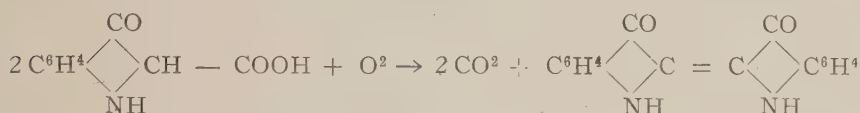


(condensation très lente s'effectuant au-dessous de  $40^\circ$ ).

L'acide phénylglycolle-orthocarbonique est chauffé au-dessus de 200° avec KOH et H<sup>2</sup>O : la masse se colore en orange et on obtient l'acide indoxylrique :



Cet acide indoxylrique, par ébullition avec l'eau au contact de l'air fournit l'indigo :



### Propriétés

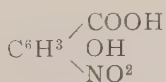
L'indigotine est insoluble dans l'eau, mais peut cependant donner des pseudo-solutions colloïdales capables de filtrer à travers le papier surtout quand elle provient de l'oxydation de l'indigo blanc.

Elle est soluble dans le chloroforme, l'aniline, la stéarine, la paraffine, l'essence de térébenthine.

Elle se sublime sans décomposition dans le vide, mais si on la chauffe sans précaution, elle se décompose partiellement et donne à la distillation de l'aniline.

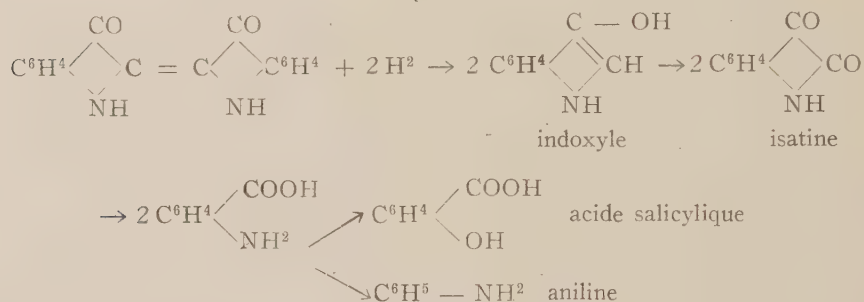
Les agents d'oxydation la décolorent.

Oxydée par l'acide azotique, on a comme dans tous les modes d'oxydation d'abord de l'indoxyle, forme transitoire aboutissant à l'isatine ; mais si l'action de NO<sup>3</sup>H se prolonge, on obtient l'acide nitrosalicylique :

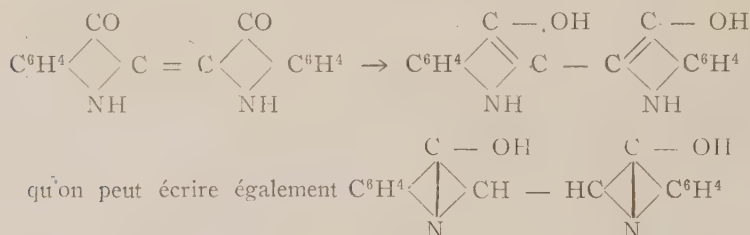


L'action de NO<sup>3</sup>H concentré sur l'indigotine donne l'acide picrique.  
Chauffée avec KOH solide, l'indigotine subit une série de transforma-

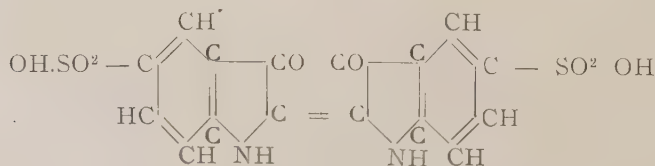
tions aboutissant finalement à l'acide salicylique tandis qu'une partie distille sous forme d'aniline :



Sous l'action des réducteurs : hydrosulfite de soude, mélange glucose-soude, soude et sulfate ferreux, l'indigotine donne un leucodérivé soluble dans l'eau : l'indigo blanc. Pour VAUBEL, cette réduction se passerait en deux temps : 1° fixation de H sur la moitié de la molécule avec formation d'un corps rouge ; 2° fixation de H sur l'autre moitié de la molécule et obtention d'indigo blanc.



SO<sup>4</sup>H<sup>2</sup> fumant donne des dérivés sulfonés de l'indigo. Suivant la proportion d'acide, sa concentration et la durée de contact, on obtient soit un dérivé mono, soit disulfoné ; le premier a reçu le nom d'acide sulfopurpurique, le deuxième, acide sulfoindigotique dont les sels constituent le carmin d'indigo du commerce. VORLÄNDER et SCHUBERT lui ont donné la formule suivante :



L'indigotine traverse le tube digestif sans être transformée, à moins que des bactéries réductrices n'interviennent pour former l'indigo blanc soluble et absorbable par la muqueuse intestinale.

Notons pour mémoire qu'autrefois on a voulu faire de l'indigo, un médicament antiépileptique, sans succès d'ailleurs (SIMONIN, 1841).

### Réactions

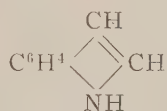
Traitée par  $\text{SO}^4\text{H}^2$  concentré, l'indigotine donne une solution olive jaunâtre qui passe au bleu par addition d'eau froide — alors que l'indirubine dans les mêmes conditions, donne une coloration brun rougeâtre devenant rose cerise avec l'eau.

KOH alcoolique donne une coloration vert olive devenant jaune pâle avec l'indigotine, tandis que l'indirubine donne un rouge grenat.

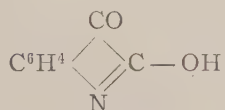
### Constitution

Les premières études de la constitution chimique et de la structure moléculaire de l'indigotine ont été entreprises par BÖYER en 1883, qui cherchait la place de l'atome d'hydrogène non lié au noyau benzénique dans la molécule de l'indigotine.

S'appuyant sur la synthèse de l'indol à partir de l'acide orthonitrocinnamique, il attribue à l'indol la formule :

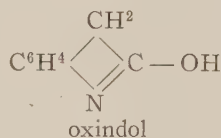
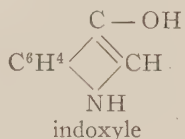


L'oxydation de l'indol lui donna l'isatine où il mit en évidence un groupement — OH, ce qui lui fit donner à celle-ci la formule suivante :

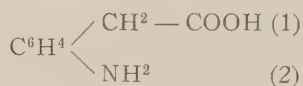


Réduisant l'isatine, il avait obtenu un corps qu'il identifia comme étant un isomère de l'indoxyle. La formation d'indoxyle à partir de l'acide indoxylrique et le fait que l'isomère, provenant de l'isatine réduite, régéné-

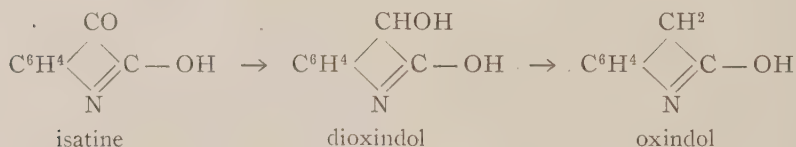
rait l'acide aminophénylacétique par traitement à l'eau de baryte lui fit attribuer les formules de constitution :



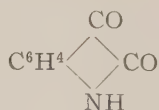
Ce dernier étant la lactame (amide interne) de l'acide aminophénylacétique :



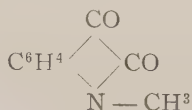
Cette notation de l'oxindol est d'ailleurs confirmée par l'étude de la réduction modérée de l'isatine :



BÆYER montra également que ces corps peuvent réagir sous une forme cétonique, forme qui n'est pas stable à l'état libre du seul fait de la mobilité de l'atome d'hydrogène fixé à l'azote ; car si on remplace cet H labile par un groupement monovalent, on donne de la stabilité à la forme cétonique ; ainsi la pseudoisatine.

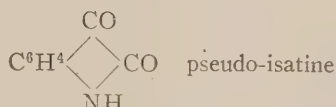
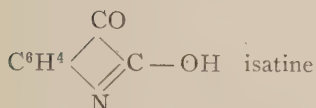
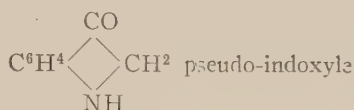
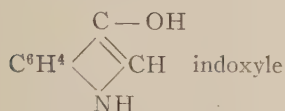


est instable, alors que l'éthylpseudoisatine

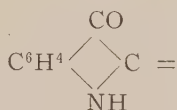


est stable.

On a donc, de cette façon, la pseudoisatine, le pseudo indoxyle, etc...



L'étude de ces formes cétoniques amena BÆYER à faire une découverte fort intéressante: le pseudoindoxyle réagit sur les aldéhydes et les cétones en donnant les corps qu'il appela des indogénides, le reste



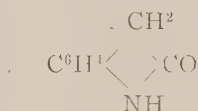
étant le groupement indogène. Cette réaction s'opérait facilement à 60° en milieu acide.

Nous avons déjà mentionné les indogénides de l'isatine au paragraphe de l'indoxyle.

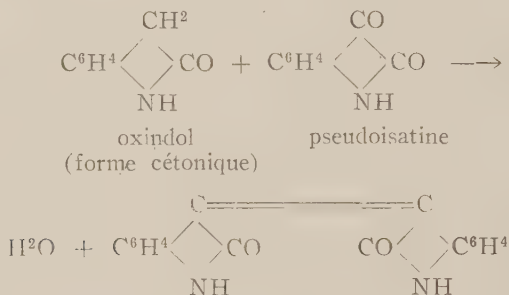
Pour BÆYER, l'indogénide  $\alpha$  était identique à l'indigotine alors que l'indogénide  $\beta$  était l'indirubine. Ce dernier s'obtient facilement en copulant à chaud l'isatine en solution chlorhydrique avec l'indoxyle; ils réagissent tous deux sous leurs formes pseudo. Mais l'indogénide  $\alpha$  est plus difficile à préparer et BÆYER n'a jamais pu l'obtenir par une réaction unique des deux molécules indoxyle et isatine, insuccès qu'il mettait sur le compte de l'instabilité de la forme pseudoindoxyle (*Deuts. Chem. Gesel.*, 15-782, et 16-2168-1888), et qui était dû à ce que l'isatine réagit dans la plupart de ses réactions de condensation par son carboxyle  $\beta$ .

WAHL et BAGARD étudiant les indogénides de l'oxindol avec les aldéhydes et les cétones, préparèrent une série de corps qu'ils rangèrent sous la dénomination d'iso-indogénides.

Dans ces réactions, l'oxindol réagit sous sa forme cétonique ou pseudo-oxindol :



Ils parvinrent ainsi à préparer un isomère de l'indigotine en combinant l'isatine à l'oxindol.



Cet isoindogénide diffère de l'indogénide  $\beta$  de BOEYER par la soudure des deux groupes indogènes par les carbones en  $\beta$ .

L'analyse élémentaire qu'ils firent de ce corps donna des résultats très voisins de ceux qu'ils avaient calculé pour  $\text{C}^{16}\text{H}^{10}\text{N}^2\text{O}^2$ .

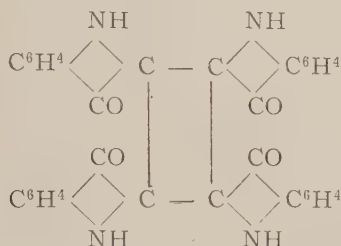
Mais leurs travaux, comme l'avaient été ceux de BŒYER, furent attaqués par L.-C. MAILLARD qui reprit les théories qu'il avait soutenues dans sa thèse (*Fac. Médecine Nancy*, 1092-03).

MAILLARD avait remarqué qu'en traitant une urine indoxylrique par le réactif d'OBERMAYER (4 gr.  $\text{FeCl}^3$  et  $\text{HCl}$  q. s. p. 1.000  $\text{cm}^3$ ), on obtient une coloration bleue, plus soluble dans le chloroforme que l'indigotine ayant déjà passé par l'état cristallisé. Il avait conclu de cette observation que ce colorant bleu n'était pas de l'indigotine, comme on le croyait, mais une substance différente, l'hémiindigotine, à laquelle il donnait la formule de l'indogénide  $\alpha$  de BŒYER.

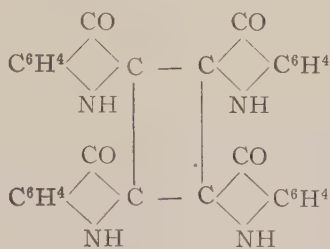
Il avait choisi le nom d'hémiindigotine parce que ce corps, laissé en contact, avec le chloroforme acide, virait au rouge en donnant de l'indirubine; tandis qu'en lavant le chloroforme avec de l'eau distillé, une solution alcaline faible et à nouveau à l'eau distillée, la couleur ne virait pas au rouge, mais sa solubilité dans le chloroforme diminuait et on assistait à la formation d'un dépôt cristallin bleu d'indigotine au fond du tube où l'on conservait le liquide.

MAILLARD interprétait ces phénomènes en disant que l'hémiindigotine originelle se polymérisait :

a) en milieu acide, polymérisation de deux molécules symétriques pour donner l'indirubine :



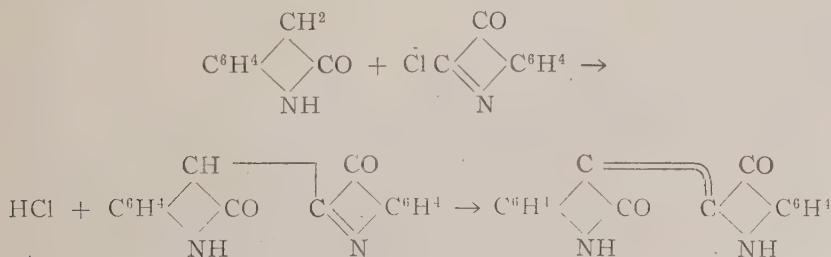
b) en milieu alcalin, deux molécules parallèles donnant l'indigotine.



D'après cette théorie, les deux couleurs indigotiques, seraient des isomères stéréochimiques au lieu d'être comme le pensaient BÖYER, WAHL et BAGARD, des isomères de structure.

WAHL et BAGARD donnèrent une synthèse nouvelle de l'indirubine ren- forçant l'hypothèse d'une isomérisation de structure.

Ils firent agir le chlorure d'isatine sur l'oxindol, la fonction méthylénique de l'oxindol réagissant avec le groupement carboxylé de la chaîne lactamique de l'isatine :

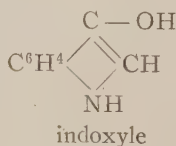
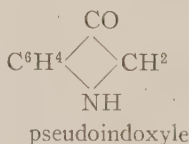
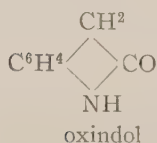


Le mode opératoire était le suivant : transformer l'isatine en chlorure en chauffant 1 gr. 50 d'isatine avec 5 cm<sup>3</sup> C<sup>6</sup>H<sup>6</sup> et 2 gr. 5 PCI<sup>5</sup>. Quand toute l'isatine est dissoute ajouter une solution de 1 gr. 35 d'oxindol dans un excès de benzine, faire bouillir au réfrigérant ascendant plusieurs heures. La solution brune prend une teinte violacée qui augmente d'intensité et la matière colorante se dépose; on essore, on lave avec de la benzine et avec de l'éther et on purifie par recristallisation dans l'aniline.

Le produit obtenu a été traité par la méthode de SCHUNCK et MARCHLEWSKI (*D. Chem. Gesel*, t. 28, p. 2925) : réduction par la poudre de zinc au sein d'anhydride acétique en présence d'acétate de sodium fondu. En même temps, on traitait deux autres échantillons d'indirubine, l'un préparé par la méthode de BÖYER (acide indoxylrique et isatine), l'autre provenant de la Badish Anilin, purifié par extractions successives au soxhlet avec du chloroforme. Les trois échantillons ont donné un produit répondant bien aux indications de SCHUNCK et MARCHLEWSKI : cristaux blancs fondant à 204°.

A ceci, MAILLARD répondait « Admettons que c'est bien de l'indirubine, mais alors c'est qu'une transposition moléculaire de l'oxindol s'est produite au cours de la préparation ou une polymérisation ».

Pour dissiper ce dernier doute, WAHL et BAGARD entreprirent de nouvelles expériences. La transposition moléculaire de l'oxindol ne peut se faire que de deux façons, l'oxindol donnant soit de l'indoxyle, soit du pseudoindoxyle.



Le pseudoindoxyle n'étant pas stable et n'existant pas à l'état libre, le champ d'expérience des auteurs se trouvait réduit à la seule action du chlorure d'isatine sur l'indoxyle. Si le produit obtenu était identique à celui que donnait l'oxindol, MAILLARD avait raison.

Le corps que WAHL et BAGARD préparèrent dans ces nouvelles recherches se présentait sous forme de solution rouge intense, mais laissant déposer un produit solide, mélange de plusieurs colorants : matière brun rouge, de l'indigo en forte proportion et un peu d'indirubine. Les composés rouges étaient dus à l'action de l'acide chlorhydrique sur l'indoxyle ainsi

qu'on le constate expérimentalement — HCl se formant au cours de la réaction :



Si on opère au sein de la pyrridine anhydre qui neutralise HCl dès sa formation, on n'obtient plus de produits rouges, mais de l'indigotine exclusivement qu'on peut isoler à l'état pur et caractériser par ses réactions sans pouvoir mettre en évidence de l'indirubine dans les eaux mères.

Tout ceci prouve bien que l'oxindol et l'indoxyle réagissent de façon différente dans des conditions identiques, le chlorure d'isatine avec l'oxindol donne de l'indirubine, avec l'indoxyle de l'indigotine. Ces résultats s'expliquent normalement à l'aide de formules de BÆYER et viennent à l'encontre de la théorie de MAILLARD.

Il restait cependant en faveur de celle-ci la différence de solubilité entre le corps bleu que MAILLARD appelait héliindigotine — et l'indigotine ayant passé déjà par l'état solide. Justin MUELLER en donna l'explication ainsi que des changements de teinte qu'on observe au cours du vieillissement de l'extractif chloroformique (J. P. C., 1917 — 1<sup>re</sup> partie, p. 249).

Ayant repris les expériences de MAILLARD, il constata qu'au repos l'extract des pigments indigoïdes urinaires prenait parfois — mais non pas dans tous les cas — une teinte plus rougeâtre, mais que ce changement était dû à la différence de solubilité des différents pigments dans ce liquide extractif. Quand la solution virait au violet ou au rouge, on remarquait un dépôt plus ou moins accentué de pigment bleu au fond du tube. Justin MUELLER put même à volonté obtenir le virage en modifiant la solubilité de l'un ou l'autre pigment : l'indirubine étant plus soluble dans l'éther que l'indigotine, si on ajoute de l'éther à l'extractif chloroformique, on obtient un précipité bleu et la solution devient violette.

En évaporant l'extract chloroformique à basse température et en traitant le résidu par l'éther, il reste après décantation, une partie bleue qu'on peut dissoudre dans le chloroforme. L'évaporation de ces deux solutions éthérée et chloroformique laisse d'une part de l'indirubine, de l'autre part de l'indigotine qu'on caractérise par leurs réactions.

Ceci prouve que l'indigotine et l'indirubine coexistent dans l'extractif chloroformique, l'indigotine provenant de la condensation de deux molécules d'indoxyle par oxydation — l'indirubine venant de la condensation d'indoxyle avec une molécule d'isatine qui vient de l'oxydation préalable d'une partie d'indoxyle.

La preuve à l'appui de cette thèse c'est qu'on peut à volonté obtenir selon le degré d'oxydation de l'indigotine ou de l'indirubine en proportion dominante ; pour avoir la prépondérance en indirubine et en extractif très fortement violacé, il suffit de traiter l'urine préalablement déféquée par une solution de  $\text{CrO}_3$  à 1/1000 avant d'ajouter  $\text{HCl}$  et  $\text{CHCl}_3$ .

Enfin, dans sa communication, Justin MUELLER donne l'explication de la différence de solubilité de l'indigotine selon qu'elle a ou non déjà passé par l'état solide et qu'elle est en solution plus ou moins récente. Se basant sur une communication personnelle du professeur GRANDMOUGIN, il montre que l'indigotine possède des degrés de solubilité différents suivant son état de division. L'indigotine préparée industriellement, ou extraite de l'urine est insoluble dans l'éther. Cependant, si on traite de l'indigotine à froid par  $\text{SO}^4\text{H}^2$  à  $66^\circ$  B, assez rapidement pour éviter la sulfo-conjugaison et qu'on ajoute au liquide jaunâtre ainsi obtenu une grande quantité d'eau froide, on obtient une solution (ou pseudo solution) bleue de laquelle l'indigotine est extraite intégralement par l'éther. Mais si cette solution éthérée est trop concentrée, il se forme un dépôt de fines paillettes bleues sur les parois du tube ; ce dépôt se dissout par addition d'un peu d'alcool.

Il est hors de doute que l'observation de L.-C. MAILLARD ne puisse s'expliquer de façon analogue.

WAHL et BAGARD sous l'angle de la chimie pure, Justin MUELLER quant à l'application au domaine biologique ont apporté des conclusions qui réfutent les hypothèses fort ingénieuses, certes, de L.-C. MAILLARD. Il faut donc se ranger à l'opinion de BÖYER et voir dans l'indigotine et l'indirubine respectivement les indogénides  $\alpha$  et  $\beta$  de l'isatine.

## INDIRUBINE

Appelée encore par ceratins auteurs indigopurpurine, l'indirubine se rencontre à côté de l'indigotine dans l'indigo. CHVREUL faisant bouillir de l'indigo végétal avec de l'alcool obtenait « une résine rouge » (1808), qui était de l'indirubine.

Nous venons de voir qu'on en fait la synthèse par l'action de l'isatine sur l'indoxyle en milieu chlorhydrique (BOUMA) et que WAHL et BAGARD l'ont obtenue par action de l'oxindol sur le chlorure d'isatine.

BÖYER en obtenait de petites quantités en réduisant le chlorure d'isatine en solution acétique par la poudre de zinc.

On l'obtient en même temps que l'indigotine dans le dédoublement de l'indican végétal sous l'influence de l'acide chlorhydrique en présence d'un oxydant tel que  $\text{FeCl}^3$ .

Elle accompagne presque toujours l'indigotine et il est très difficile de l'obtenir pure: on ne peut y arriver qu'en procédant à des dissolutions fractionnées par l'éther.

### *Propriétés*

Aiguilles brun chocolat à éclat métallique. Insoluble dans l'eau; soluble dans l'alcool, surtout à chaud, dans le chloroforme, l'éther et l'acide acétique glacial, sa solution montre un spectre présentant une bande d'absorption unique, assez large et estompée sur les bords, s'étendant dans la région jaune et verte.

Insoluble également dans les acides et les bases étendus, cependant sa solution chloroformique cède des traces aux lavages acides ou alcalins.

Ses caractères chimiques sont les mêmes que ceux de l'indigotine.

L'acide sulfurique concentré la dissout à froid en donnant l'acide indirubine sulfonique soluble dans l'eau en donnant une solution carminée.

## LE POURPRE DES MOLLUSQUES

Se rattache aux colorants indigotiques et il nous paraît difficile de clore le chapitre sans le mentionner brièvement.

Le chromogène du purpura lapillus étudié par SCHUNCK et LETELLIER (1880-1890) et plus récemment par RAPHAËL DUBOIS (1902), est soluble dans l'alcool, dans l'éther, dans les solutions potassiques qu'on peut séparer en deux chromogènes dont l'un, assez facilement soluble dans l'eau, constitue des cristaux gris vert; à la lumière, cette coloration change en violet rouge et cette transformation s'accompagne de développement de produits sulfurés parmi lesquels le sulfure d'allyle (LETELLIER): on assisterait à une transformation de la purpurine sous l'influence d'une diastase, la purpurase, en un produit vert qui à la lumière donnerait finalement le pourpre. Celui-ci est purifié par des lavages à l'eau et épuisement au soxhlet par l'alcool, puis recristallisation dans le benzoate d'éthyle.

L'analyse lui attribue une composition centésimale correspondant à  $\text{C}^{16}\text{H}^8\text{Br}^2\text{N}^2\text{O}^2$  que FRIEDLANDER a trouvé en tous points comparable à la dibromoindigotine obtenue synthétiquement en partant de la para-bromo-ortho-nitrobenzaldéhyde.



DEUXIEME PARTIE

---

**L'INDOL ET SES DÉRIVÉS  
DANS LES ORGANISMES VIVANTS**



## CHAPITRE PREMIER

---

# ACTION GÉNÉRALE SUR LES ÊTRES VIVANTS

---

Abordons maintenant le sujet qui justifie du titre que nous avons donné à notre travail « l'Indol et le Skatol en biologie ». Le domaine est vaste.

Mais tout d'abord, une question se pose au seuil de ce chapitre : l'indol est-il toxique pour les êtres vivants ?

Les expériences qui ont été faites ont montré que ni l'indol, ni l'indoxy-le, même à fortes doses, chez l'homme et les animaux supérieurs, ne peuvent être considérés comme toxiques.

HERVIEUX faisait ingérer à des animaux une suspension huileuse d'indol qu'il introduisait à l'aide d'une sonde stomacale. Il a également essayé la toxicité en injections sous-cutanées. Il observa simplement une forte excitation du foie marquée par une forte décharge de bilirubine dans les fèces qui prenaient alors une forte teinte ocre ; cependant, si la dose est très forte et si on en renouvelle l'administration, on assiste à des hémorragies rénales.

BAUMANN et BRIEGER donnèrent sans provoquer de troubles à une chienne de vingt-quatre kilos, 18 gr. d'indol en 5 jours.

HERVIEUX fit absorber sans provoquer de phénomènes d'intoxication 34 gr. d'indol en neuf jours à une chienne ; mais le même animal, quelques mois plus tard, après ingestion de 9 gr. en 4 jours présenta de fortes hémorragies rénales qui furent combattues par des injections sous-cutanées de sérum caféiné.

A faible dose, l'indol agit sur le cœur en provoquant l'accélération et l'accroissement d'amplitude des systoles. A fortes doses, le cœur de grenouille présente au contraire une diminution de hauteur et de fréquence des systoles aboutissant à la paralysie finale par action directe sur le muscle cardiaque.

Sur les organismes inférieurs : cyclops, vers, daphnies, larves de mouches, l'indol aurait une action paralysante (DONILEWSKY). Ceci semble concorder avec les observations de ROCEK (*Centre. Bakt. Parasit. chem. abst. Pharm.*, 1916 — X p. 199) : l'indol empêcherait, en solution concentrée, le développement du B. typhique et serait un bactéricide puissant pour cet organisme.

L'indol serait donc immédiatement toxique pour les êtres inférieurs, alors que sa toxicité ne s'exercerait qu'à la longue sur les être supérieurs.

DRATCHINSKI (*Ann. Pasteur* XXVI, 401, 1912) a remarqué que chez le cobaye, l'introduction de petites doses pendant une période assez longue amène une dégénérescence athéromateuse des parois de l'aorte dans la région des valvules et des phénomènes de dégénérescence dans différents parenchymes : sclérose des reins, cirrhose du foie, sclérose des surrénales et du cerveau.

METCHNIKOFF concluait dans le même sens son étude sur la toxicité des sulfoconjugués de la série aromatique. « Les petites doses de paracrésol et d'indol accumulant leur action sur l'organisme pendant un temps plus ou moins long sont capables d'amener des lésions chroniques se traduisant par des phénomènes de sclérose — ce sont précisément des lésions qu'on observe dans la vieillesse » La sulfoconjugaion de ces substances est le premier stade de la défense de l'organisme ; elle parvient à réduire la toxicité, mais jamais à la faire disparaître entièrement (E. METCHNIKOFF, *Ann. Inst. Pasteur*, p. 893, XXVIII, 1913).

---

## CHAPITRE II

---

# ORIGINE DE L'INDOL ET TRAVAIL BACTÉRIEN

---

Quelle est l'origine de l'indol et de ses dérivés et quel est le mécanisme de leur formation?

Nous savons maintenant, c'est devenu une notion classique, que l'indol, dans l'organisme, provient de la dégradation du tryptophane.

Nous allons retracer le chemin parcouru par les chercheurs pour arriver à ce concept.

KÜHNE, fondant la fibrine avec de la potasse caustique, obtint après purification, des cristaux se colorant en rouge par l'acide nitrique. ELLINGER et JANECKE (1876), reprennent l'expérience et obtiennent également des cristaux se colorant en rouge par  $\text{NO}^3\text{H}$ . Le point de fusion était très voisin de  $50^\circ$  —, mais une minime partie de ces cristaux fondait à une température supérieure à  $70^\circ$  — NENCKI ayant comparé ces données avec les travaux de BÆYER sur l'indol, pensa qu'on se trouvait en présence de l'indol (le point de fusion donné par BÆYER étant  $51-52^\circ$ ) et du skatol. OSSIKOWKY ayant émis l'idée que l'indol et le skatol viennent de la putréfaction de la tyrosine, BAUMANN (1880) fit putréfier ce corps, mais n'obtint pas trace d'indol ni de skatol.

Ces travaux permettaient de conclure à l'origine albuminoïdique de l'indol et du skatol et d'établir qu'ils ne venaient pas de la tyrosine. La fusion potassique et la putréfaction de ces corps avaient conduit à ces conclusions.

Quel était le constituant de la matière albuminoïde qui était générateur d'indol?

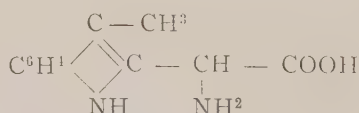
NENCKI, dans une série de travaux, montra que, outre leurs constituants acycliques, les matières albuminoïdes renferment trois groupes cycliques : 1° celui de la phénylalanine ; 2° celui de la tyrosine ; 3° le protéinochromogène qu'il appelait ainsi parce qu'il pensait trouver en lui le générateur des couleurs de l'organisme. C'est parmi ces trois groupes qu'on devait chercher le générateur de l'indol et de ses dérivés ; l'indol, corps azoté, ne pouvant dériver que de la fragmentation de matières azotées quaternaires, il ne suffit cependant pas qu'un albuminoïde se dégrade pour qu'on obtienne de l'indol : des substances telles que la gélatine, la tyrosine... ne sont pas génératrices d'indol.

NENCKI, continuant ses travaux, fond avec de la potasse le dérivé bromé du protéinochromogène. Le produit de fusion, acidifié par l'acide acétique, est distillé : de l'acide sulfhydrique passe, accompagné de mercaptan au début de la distillation et ensuite, de l'indol et du skatol en quantité abondante. Résultat confirmé par BEILLER qui signale de son côté que le dérivé chloré du protéinochromogène, par fusion potassique, donne de l'indol et du skatol.

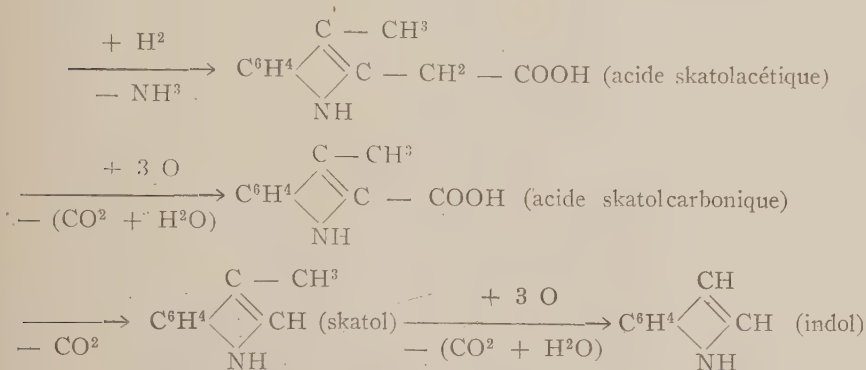
D'autre part, NENCKI ayant laissé du pancréas de bœuf dégraissé et additionné d'eau chloroformée — ceci afin d'entraver la putréfaction — trouva dans le liquide, après filtration, le protéinochromogène. Or, ici l'action de la putréfaction ne pouvant être en cause, il ne restait qu'à impliquer l'action des ferments pancréatiques.

Le protéinochromogène ainsi obtenu se colorait en violet par l'eau de brome et le produit violet se séparait en deux substances, une rouge, soluble dans l'alcool et une autre d'un brun sale, insoluble dans l'alcool. L'analyse centésimale de ces produits et leurs réactions attirèrent l'attention de NENCKI sur la ressemblance entre les couleurs solubles dans l'alcool et l'hématoporphyrine et la biliburine — le produit brun insoluble dans l'alcool rappelant les mélamines.

Le protéinochromogène, que STADELMANN appelait tryptophane, reçut de NENCKI la formule suivante :



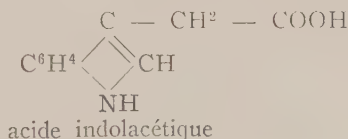
qui était l'acide skatolaminoacétique et donnait les produits générateurs de skatol et d'indol selon le schéma suivant :



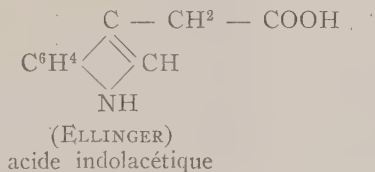
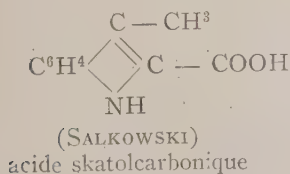
HOPKINS et COLE isolèrent le tryptophane à l'état cristallisé et les produits de dégradation qu'ils obtinrent à partir de ce corps les incitèrent à lui donner la formule de NENCKI (acide skatolaminoacétique).

Mais WILSLICENIUS et ARNOLD faisant à partir de la phénylhydrazone de l'acide propionylformique  $\text{CH}^3\text{-CH}^2\text{-CO-COOH}$  la synthèse de l'acide skatolcarbonique, virent que le corps formé n'avait pas les mêmes propriétés que celui isolé par les frères SALKOWSKI et auquel on donnait la formule découlant des travaux de NENCKI.

ELLINGER (1904) fit la synthèse de l'acide indolacétique au moyen de la phénylhydrazone de l'acide  $\beta$  aldéhydropropionique par une réaction du type de celles que nous avons vues au chapitre de l'indol. Il montra que le corps ainsi obtenu était identique à l'acide skatolcarbonique des SALKOWSKI :

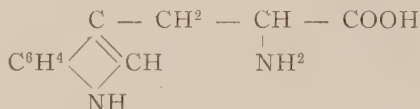


Cette formule, tout aussi bien que celle des SALKOWSKI, expliquait qu'on pût passer au skatol par perte de  $\text{CO}^2$ .

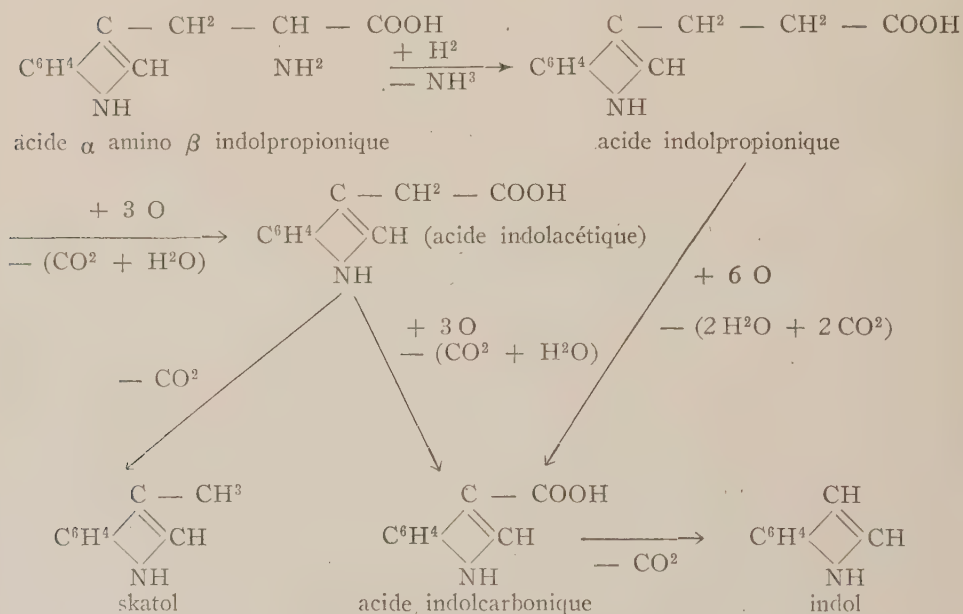


L'année suivante, ELLINGER fit la synthèse de l'acide indolpropionique au moyen de la phénylhydrazone de l'acide  $\gamma$  aldéhydobutyrique  $\text{CHO}-\text{CH}^2-\text{CH}^2-\text{CH}^2\text{COOH}$  et identifia l'acide indolpropionique avec l'acide skatolacétique de NENCKI.

Le tryptophane, ayant un groupement aminé, devenait d'après ces conclusions l'acide  $\alpha$  amino- $\beta$  indolpropionique



formule qui se prêtait aux conclusions de NENCKI en modifiant légèrement son schéma, la chaîne latérale étant greffée en  $\beta$  sur le noyau indol — alors que NENCKI la situait en  $\alpha$  et plaçait un  $\text{CH}^3$  en  $\beta$ . C'est la seule erreur à relever dans ses travaux.



ELLINGER obtint synthétiquement le tryptophane racémique à partir de l'acide indoxyle- $\alpha$  benzoyl-aminoacrylique, tryptophane identique à l'acide indolaminopropionique.

Ayant injecté ce tryptophane dans le cœcum des lapins, il constata une forte augmentation de l'indoxyle dans les urines, mais ne parvint pas à mettre le skatol en évidence. Ceci confirme bien le schéma que nous venons d'exposer, avec passage direct de l'acide indolpropionique à l'acide indolcarbonique, le tryptophane étant le noyau générateur de l'indol dans les phénomènes.

Mais sous quelle influence s'opère cette dégradation?

Nous avons vu que les auteurs qui étudièrent cette question obtenaient l'indol soit par fusion potassique, soit par putréfaction des matières albuminoïdes tryptophaniques.

HOPKINS et COLE mirent en évidence le rôle des microbes de la putréfaction en mêlant du tryptophane à de la gélatine et en soumettant ce mélange à l'action des germes ordinaires de la putréfaction; ils obtinrent de l'indol, du skatol et de l'acide indolacétique. De la gélatine pure, soumise à la même action, ne donnait rien.

Cette expérience prouvait donc que l'indol provient des substances tryptophaniques modifiées par les bactéries.

Le *B. Coli* agissant sur le mélange d'HOPKINS et COLE ne donnait pas d'indol, mais seulement, dans les conditions où les auteurs opéraient, de l'acide indolpropionique (qu'ils appelaient acide skatolacétique).

In vivo, l'indol doit avoir la même origine. En effet, on remarque un rapport indiscutable entre l'intensité des putréfactions intestinales et la quantité d'indoxyle urinaire éliminé. En agissant sur le processus putréfactif, on agit parallèlement sur l'élimination d'indoxyle.

COHENDY constata que l'ingestion de thymol pouvait amener une diminution des germes intestinaux dans une proportion de 1/3. — L'évaluation des germes se faisait sur un milligramme de fèces. — A cette diminution correspondait une élimination de sulfoconjugués urinaires sensiblement plus faible.

De même, l'administration de calomel, qui agit à la fois par son action mécanique en éliminant bon nombre de microbes intestinaux et par son action antiseptique, provoque une forte chute de l'indoxylurie.

Enfin dans le cas où les bactéries sont absentes du tube digestif, on ne trouve pas de corps aromatiques conjugués dans l'urine. SÉNATOR a montré que les nouveaux-nés qui n'ont pas encore l'intestin ensemencé par l'apport alimentaire, n'ont pas d'indol dans le meconium et pas d'indoxyle dans l'urine. THERFELDER et NUTAL ayant aseptiquement, par opération césarienne, extrait des cobayes de l'utérus maternel et les ayant élevés

aseptiquement, ne leur donnant que des aliments stérilisés et les maintenant sous une cloche où n'entrait que de l'air stérile, ne trouvèrent dans l'urine de ces animaux ni indoxyle, ni crésol, ni phénol. L'expérience, il est vrai, ne put durer que huit jours, les sujets ayant présenté un déséquilibre nutritif marqué par une paralysie du train arrière.

La Roussette (*Pteropus Médius*), chauve-souris des pays tropicaux ne se nourrissant que de végétaux et surtout de fruits, présente la particularité de posséder un gros intestin réduit à sa plus simple expression et, grâce à cette dimension réduite peut être, pratiquement stérile. Son contenu intestinal ne renferme jamais d'indol ni de phénols et son urine n'en laisse jamais déceler.

Au contraire, les herbivores à vaste tube intestinal, tel que le cheval qui possède un très vaste cœcum, ont des digestions très lentes et les matières séjournent longtemps dans l'intestin, conditions les meilleures pour l'indologénèse : grande surface et temps prolongé offerts à l'action putréfactive. Leurs excréments, très friables, se prêtent à une absorption presque totale, par la muqueuse, des produits formés. Et de fait, l'urine de cheval est une des plus riches en indoxyle.

On peut donc affirmer que dans l'organisme, la formation de corps indoliques est sous la dépendance de l'activité et de la qualité des bactéries.

De leur activité, car si on entrave leur action, c'est-à-dire les fermentations qu'elles provoquent dans l'intestin, malgré une numération de germes élevée par milligramme de fèces, on aura une production d'indol ralentie. HERVIEUX a remarqué que l'ingestion de lactose, le régime lacté, la soupe au pain et au lait, chez le chien, amenait une forte diminution de l'excrétion urinaire de sulfoconjugués. Les produits de fermentation du lactose, acides lactique et succinique libérés sous l'action des bacilles aérobies, principalement du *B. lactis aérogènes* (BLUMENTHAL), paralysent les bactéries dont le rôle serait d'agir sur la caséine qui libérerait le tryptophane devant être ultérieurement attaqué. NACHTERGAEL (*C. R. Soc. biol.*, p. 1239, 1920) a étudié l'action des sucres sur le développement de l'indol en se servant comme milieu de culture de l'eau peptonée à 1 0/00 additionnée de chlorure de sodium à 5 0/00. Pour le *B. coli*, le glucose, lactose, maltose, mannite, exercent une inhibition complète et il n'y a pas production d'indol ; le saccharose, avec ce germe, n'a pas révélé d'action inhibitrice constante. Le *B. de Hiss* et FLEXNER n'a été gêné nettement que par le glucose. Le *Proteus* aurait pour meilleur antagoniste le saccharose.

Cette action contrariante des sucres s'exerce également in vivo. Mais

pour qu'elle soit efficace, il est nécessaire que les sucres arrivent dans l'intestin, sur le lieu même des putréfactions, sans avoir été trop modifiés préalablement par l'action des sucs digestifs. C'est pourquoi l'ingestion d'aliments celluloseux sucrés tels que les dattes, les carottes, l'absorption d'amidon enrobé soit de kératine, soit de paraffine, ont été reconnues comme étant le plus sûr moyen de combattre l'indologénèse, par conséquent l'action des bactéries intestinales. Ceci explique l'observation que faisait HARNACK, que le lapin n'a que très peu d'indoxyle dans l'urine, car l'animal sur lequel il opérait était nourri de carottes et de navets; la digestion de la cellulose ne se faisant que dans l'intestin et précisément sous l'action de certaines bactéries, les hydrocarbures étaient alors libérés et entravaient le travail de la putréfaction. La bile joue également un rôle dans ce cas: elle favorise la transformation de l'amidon (Roger J. P. C., 1912, t. 1, p. 517).

Il est donc hors de doute que dans l'organisme aussi bien qu'au cours des expériences de laboratoire, la formation d'indol est sous la dépendance des bactéries. Mais de même que toutes les matières protéiques ne sont pas aptes à donner de l'indol, de même tous les germes microbiens ne peuvent transformer le tryptophane pour aboutir au terme de la dégradation et c'est là qu'il faut faire intervenir la qualité des bactéries.

Le fait est indiscutable pour certains germes qui, en culture pure, produisent de fortes quantités d'indol: le Vibrion cholérique, le Colibacille. Elle atteint son maximum au quatorzième jour pour le B. Coli et pour le Vibrion cholérique, au dix-neuvième jour.

Avec le B. d'EBERTH, Paratyphique et les germes dysentériques, même après huit jours de contact, la réaction de l'indol est nulle (NONOTTE et DEMANCHE).

LOUIS GAUTHIER (*Recherche sur l'Indol en Microbiologie*, thèse Pharm., Lyon, mars 1912) a étudié la production d'indol avec la majeure partie des germes. D'après cet auteur, les Cocci ne donnent pas d'indol, sauf les Staphylocoques pyogènes. Le B. de KOCK, le B. de LOEFFLER, le B. de la Morve n'en donnent pas. En eau peptonée, Coli et Proteus en produisent abondamment. Le Vibrion septique est indologène (KITASATO); le Tétanique également, ainsi que les B. du Botulisme, B. Entéridis sporogènes, et Perfringens. Le Pyocyanique n'en donne pas, non plus que le groupe des sporulés: Subtilis, Mesentericus, Megatherium. Le Vibrion cholérique produit abondamment de l'indol et la coloration du nitrate-rot est due, dans le milieu de culture, à sa formation et à la réduction simultanée des nitra-

tes en nitrites qui réagissent sur l'indol en produisant la coloration : nitrosoindol.

On voit que les germes microbiens libérant de l'indol à partir du tryptophane sont relativement peu nombreux.

En dehors même de l'intestin, ils peuvent donner naissance à l'indol s'ils exercent leur action sur des matières tryptophaniques. Nous avons vu que le Staphylocoque pyogène est générateur d'indol. On a signalé une augmentation sensible de l'élimination urinaire d'indoxyle dans nombre d'affections, suppurées : dans la bronchite purulente (BRIEGER), dans les abcès et les collections purulentes (BLUMENTHAL) et PORCHER a mis l'indol en évidence dans certains pus. Cet indol, repris par le courant circulatoire, s'élimine par l'urine après oxydation et conjugaison.

On a signalé également la formation abondante d'indol dans la tuberculose, surtout dans les formes intestinales, mais également dans les formes pulmonaires. CATTANEO, affirmant que l'augmentation d'indoxyle urinaire est constante chez les enfants tuberculeux, proposait d'en faire un signe devant servir au diagnostic précoce de cette affection chez les enfants. HOCHSINGER soutenait la même opinion. Mais nous venons de voir que le B de KOCK ne donne pas d'indol. MOMIDLOWSKI et STEFFEN (1902-1904), prétendaient n'avoir constaté l'accroissement d'indoxyle urinaire que dans des cas très rares de tuberculose. L'observation de CATTANEO s'explique sans doute par les troubles digestifs et nutritifs que déclanche la tuberculose dans l'organisme, et non pas par la maladie elle-même, simple concomitance et non pas relation de cause à effet, de même que dans la typhoïde où le B d'EBERTH n'étant pas générateur d'indol, on assiste cependant à une forte élimination provoquée par le Coli accompagnant le germe pathogène.

On a cru voir également dans l'élimination de grosse quantité d'indoxyle un signe d'insuffisance, hépatique, signe précoce pour PAUDELEU (*Thèse Méd.*, Montpellier, 1904) et CARLES. Il faut, écrivait PAUDELEU, « puisque l'indican passe dans l'urine, que le foie n'exerce plus son rôle protecteur et que la barrière hépatique soit franchie par suite des altérations que subit cet organe ». Et plus loin « Le cœur est intimement lié au foie. Le foie cardiaque se rencontre fréquemment chez les cardiopathes ; il est donc facile de trouver chez ces malades une insuffisance fonctionnelle du foie ». Poussant à l'extrême sa logique, il pensait que la présence d'indoxyle urinaire pouvait mettre sur la voie d'une affection cardio-hépatique.

On avait encore attribué un rôle à la rate et on signalait l'augmentation d'indoxyle chez le chien dont la rate avait été extirpée.

H. LABBÉ et VITRY voyaient dans l'indol un produit du métabolisme endogène normal des albuminoïdes, en dehors de toute action microbienne, se basant pour émettre cet avis, sur l'étroit parallélisme qui existe souvent entre la vie cellulaire et la vie microbienne. Pour eux comme pour E. SAL-KOWSKI « l'albumine corporelle se décomposait avec la formation d'indol par la fermentation des tissus, tout à fait indépendamment de la digestion pancréatique et cependant dans le même sens ». La quantité d'indoxyle urinaire excrétée était pour ces auteurs la mesure du métabolisme endocellulaire des matières protéiques, avec en plus, une quantité variable provenant de l'action microbienne intestinale, GNEZDA (1902) signalant certains cas où une forte indoxylurie marchait de pair avec une forte élimination d'urée, concluait également à l'origine endogène de l'indol.

Cette opinion s'étayait en outre sur la remarque suivante, que même au cours des jeûnes prolongés, de l'administration d'antiseptiques intestinaux énergiques, on trouve toujours de l'indoxyle urinaire. Les défenseurs de cette théorie raisonnaient de la façon suivante: Comme l'indol ne peut alors venir des aliments ni de fermentations microbiennes qui n'ont plus matière à exercer leur action du fait du jeûne, c'est donc qu'il provient de la profondeur même des cellules de l'organisme.

Chez le jeûneur Cetti, on trouva bien de l'indoxyle jusqu'à la fin de son jeûne — mais en quantité décroissante à mesure que le temps s'écoulait sans alimentation. Mais quand bien même on en eut trouvé jusqu'à l'inanition totale n'aurait rien prouvé, car la sécrétion des sucs digestifs se raréfie, mais ne cesse pas complètement; or ces sucs ont un support protéique, leur substratum est putrescible. On sait également que les animaux à jeûne sont sujets à de petites hémorragies intestinales. Le sang, le mucus, en contact avec les germes que l'intestin continue à héberger, se putréfient et ceci explique que l'on retrouve de l'indoxyle dans l'urine sans qu'il soit besoin d'imaginer une origine purement endogène.

Et si LABBÉ et VITRY avaient eu raison, comment aurait-on pu expliquer que la Roussette, que les cobayes aseptiques de COHENDY ne donnaient pas la réaction de l'indoxyle urinaire? Il faudrait supposer que le métabolisme des matières protéiques endo-cellulaires est tout différent dans ces cas, constamment différent chez la Roussette, d'un mode tout spécial sous l'influence d'une alimentation et d'une respiration stérile dans l'expérience des cobayes. Or, c'est bien invraisemblable, et il paraît plus

logique d'expliquer toutes ces observations par la présence ou l'absence de germes intestinaux.

L'argument en faveur de l'origine endogène, qui repose sur la formation d'indol malgré l'administration d'énergiques antiseptiques intestinaux ne résiste pas à un examen sérieux, l'expérience ayant montré que les antiseptiques les plus divers n'agissent que très imparfaitement sur la flore microbienne de l'intestin. Seul, d'après HERVIEUX, le régime lacté et hydrocarboné prolongé peut parfois amener une antiseptie intestinale satisfaisante avec disparition des bactéries putrides. Dans ces cas, HERVIEUX a constaté que l'urine des animaux (chiens et chats), n'avait pas d'indoxyle.

Le seul argument probant en faveur d'une indologénèse endo-cellulaire eut été la constatation simultanée d'une forte quantité d'indoxyle conjugué dans l'urine et d'une absence totale d'indol dans le contenu intestinal; or, ceci n'a jamais pu être démontré, sans doute parce que c'est là un fait impossible.

L'indol provient donc bien du tryptophane, libéré des matières albuminoïdes par la digestion, attaqué dans l'intestin par les bactéries de la putréfaction. Joignons-y une autre provenance, mais pour une très faible part: l'action de certains germes pyogènes dans des foyers extra-intestinaux. C'est tout ce que l'examen des faits permet de conclure.

---

### CHAPITRE III

---

## CHROMOGENÈS DÉRIVÉS DE L'INDOL

---

L'indol ainsi libéré est en partie éliminé par les fèces. Mais pour une bonne part, il suit un tout autre chemin : du gros intestin où il s'est formé, il va passer dans les capillaires intestinaux et par les veines mésentériques et la veine porte, arriver au foie où il va subir de profondes modifications.

On a pensé, après avoir établi que la sulfoconjugaison des phénols se faisait dans le foie, par analogie, que les transformations de l'indol s'opéraient également au même endroit. Rien n'était plus logique : phénols et indol sont des produits qui prennent naissance dans l'intestin au cours des fermentations et qui, l'un comme l'autre, s'éliminent sous forme de sulfoconjugués dans l'urine. L'analogie n'est cependant pas complète : les phénols subissent entre leur mise en liberté et leur élimination une simple sulfoconjugaison, l'indol subit en plus une oxydation le transformant en indoxyle.

Des expériences dans le but de vérifier le rôle du foie furent entreprises :

1° De l'indol fut traité à l'ébullition par de la pulpe de foie, mais après l'opération, on rechercha l'indoxyle sans succès.

2° Du sang défibriné et auquel on avait ajouté de l'indol fut mis en circulation artificielle à travers le foie : on le faisait entrer par la veine porte et on le recueillait au point de jonction de la veine sus hépatique avec la veine cave inférieure, le foie étant laissé en place et la veine cave inférieure ligaturée. Dans le sang ainsi traité qui avait circulé artificiellement à travers le foie pendant une heure, il fut impossible — à l'aide de l'isatine chlorhydrique — de décélér la moindre trace d'indoxyle ; par contre, l'indol mis en jeu fut retrouvé.

Ces expériences semblaient mettre le foie hors de cause. Des chercheurs

essayèrent de voir si on ne pouvait attribuer la transformation à d'autres organes, l'intestin, par exemple.

C. GAUTIER et HERVIEUX opérèrent sur la grenouille qui supporte très bien l'ablation de l'intestin et du foie et dont l'urine prélevée à la sonde ne contient normalement que des traces infimes de chromogènes indoxyliques.

Ces grenouilles reçurent dans les sacs lymphatiques dorsaux une injection d'indol en solution faiblement alcoolique. Le lendemain, dans l'urine, on décelait par l'isatine chlorhydrique la présence d'indoxyle (C. GAUTIER *Thèse Méd.*, Lyon 1910; HERVIEUX, *Thèse sciences*, Paris 1908). Sur d'autres sujets, on procéda à l'ablation du gros intestin et on injecta de l'indol dans les sacs lymphatiques. Dans l'urine du lendemain on trouva de l'indoxyle. C'est donc que l'intestin n'est pas le lieu d'oxydation et de conjugaison de l'indol.

La résection complète du tube digestif depuis le pharynx jusqu'au cloaque donna les mêmes résultats. On procéda alors à l'ablation complète du foie, les fragments impossibles à exciser furent détruits totalement par thermocautérisation; quand les sujets furent remis du choc, on leur injecta de l'indol. En procédant aux recherches parallèles de l'indoxyle dans l'urine de grenouilles ayant conservé leur foie et traitées par l'indol et chez les sujets hépatectomisés, on put le déceler chez les premières, mais non pas chez les secondes; chez celles-ci, le chloroforme, dans la réaction de BOUMA, se teintait en rose très pâle, à peine sensible, mais on ne put retrouver l'indol libre qui n'avait pas été transformé: il avait été fixé ou transformé par un autre organe que le foie et l'élimination, si elle avait eut lieu, avait emprunté une autre voie que la voie urinaire.

Le foie a donc la plus grande part dans la transformation de l'indol, mais il n'est pas le seul à jouer ce rôle.

De même qu'on a pensé que le foie n'est pas le seul endroit de la formation de l'urée et qu'on a dit que le rein a également une part dans cette action, de même peut on croire que le rein participe à la transformation de l'indol, mas ceci est encore du domaine de la pure hypothèse.

Dans le foie, l'indol amené par le courant circulatoire subit d'abord une oxydation, il passe à l'état d'indoxyle et cet indoxyle est conjugué avec l'acide sulfurique pour donner des indoxylsulfates et particulièrement l'indoxylsulfate de potasse, forme sous laquelle on le trouve dans l'urine. A côté de ce chromogène, on rencontre en plus petite quantité de l'indoxylglycuronate de potasse. Telle est la transformation chimique subie au niveau de la glande hépatique.

Mais il est permis de se demander si l'organisme suit exactement la marche que nous venons d'indiquer : oxydation d'abord éthérification de l'indoxyle ensuite.

Pour HERVIEUX, les deux processus sont simultanés, l'éthérification accompagnant l'oxydation sans qu'on puisse séparer, dans le temps, ces deux phases. Et voici la raison qu'il invoque à l'appui de cette opinion : dans l'organisme, l'indoxyle est très instable ; injecté sous la peau ou introduit dans l'estomac par la sonde, il se transforme en bleu d'indigo qui vient teinter le tissu conjonctif sous cutané dans un large rayon autour du point d'injection, ou les parois de l'estomac. (HERVIEUX C. R. *Soc. Biol.* 62. 996, 1907). Ce qui se produit dans l'estomac et dans les tissus devrait également se produire dans le foie si la phase d'oxydation de l'indol était nettement séparée : l'indoxyle formé se transformerait tout aussitôt, partiellement au moins, en bleu d'indigo. Or il n'en est rien. Et HERVIEUX en conclut qu'il n'existe jamais d'indoxyle libre dans le foie, l'éthérification et l'oxydation se produisant en même temps.

Que savons nous de ces chromogènes indoxyliques ?

Depuis les recherches entreprises par de nombreux auteurs, nous sommes arrivés à connaître exactement leur nature, leurs propriétés et on a même réalisé leur synthèse.

## ETUDE DES INDOXYLSULFATES

En 1857, SCHUNK qui avait étudié le chromogène indigotique de l'*Isatis Tinctorialis*, eut l'idée que la matière bleue qui se dépose parfois dans l'urine était l'indigotine et que le chromogène urinaire était identique au glucoside végétal, l'indican. Mais HOPPE-SEYLER remarqua que l'indican végétal traité à l'ébullition par les alcalis donne un précipité d'indigotine, alors que le chromogène urinaire n'est pas touché dans ces conditions, ni même par les acides faibles, d'où la non identité des deux chromogènes.

BAUMANN (1876) vit que celui de l'urine était un éther sulfurique éthérifiant au dérivé hydroxylé de l'indol qu'il prit pour de l'oxindol. Puis il réussit à isoler le chromogène à l'état pur à partir de l'urine d'un chien auquel il avait administré de l'indol par voie stomacale et vit que c'était l'acide indoxylsulfurique.

HOPPE-SEYLER l'isola de l'urine de lapin ayant absorbé de l'acide orthonitrophénylpropiolique : l'urée était préalablement précipitée par addition d'acide oxalique en milieu alcalin, l'oxalate d'urée

$2 \text{ CO (NH}^2\text{)}^2$ ,  $(\text{COOH})^2$ ,  $2 \text{ H}^2\text{O}$  précipitait, l'indoxylsulfate était enlevé par un solvant éthéro-alcoolique, qui à froid et par un repos assez long laissait déposer des cristaux en tablettes quadrangulaires transparentes.

D'autres expérimentateurs se débarrassent de l'urée par fermentation.

BRIEGER déféquait l'urine par l'acétate plombique ammoniacal qui entraîne le chromogène sans toucher à l'urée alors que le sous acétate de plomb n'entraîne par l'indoxylsulfate (HOPPE-SEYLER-MAILLARD). Dans la technique de BRIEGER, le plomb est éliminé par un courant de  $\text{H}^2\text{S}$  en présence de carbonate d'ammoniaque pour neutraliser les acides qui, libérés par  $\text{H}^2\text{S}$ , pourraient décomposer partiellement le chromogène.

BÆYER traita de l'indoxyle venant de la décomposition de l'acide indol-carbonique ou de l'acide ortho-nitrophénylpropionique, par le pyro-sulfate de potasse; après un séjour de plusieurs jours à l'étuve à  $40^\circ$ , il obtient une solution dont les caractères répondaient à ceux des indoxylsulfates obtenus par extraction de l'urine. HERVIEUX, d'après les indications de BÆYER, essaya de refaire à nouveau cette synthèse, mais n'obtint jamais un résultat satisfaisant. Notons que le produit de synthèse de BÆYER ne put jamais être isolé à l'état cristallisé.

THESEN (1897) fondant avec de la potasse l'acide phénylglycine- ortho-carbonique, refroidissant rapidement le produit de cette fusion et le dissolvant dans l'eau bouillante, put obtenir par contact prolongé à  $40^\circ$ , avec du pyrosulfate de potasse rigoureusement pur (exempt de sulfate et de bisulfate) de l'indoxylsulfate à l'état cristallisé.

L' « Indican » urinaire — expression impropre, mais couramment répandue — se présente en tablettes rectangulaires, incolores, ayant beaucoup de ressemblance avec les cristaux de phénylsulfates alcalin. Ces cristaux sont solubles dans l'eau froide et chaude, peu solubles dans l'alcool froid, mais sensiblement plus solubles à chaud qu'à froid. Leur meilleur solvant est l'alcool méthylique. Insolubles dans le chloroforme, le tétrachlorure de carbone et l'alcool amylique.

Les indoxylsulfates sont inactifs sur la lumière polarisée.

Au point de vue chimique, l'acide indoxylsulfate est un sulfate acide d'indyle comme l'acide sulfovinique est un sulfate acide d'éthyle.

Comme l'indol, il possède le groupement fonctionnel des imines.

Très stable en présence des alcalis, il n'est pas décomposé même à l'ébullition. Par contre, les acides minéraux, surtout l'acide chlorhydrique, même à froid, libèrent l'indoxyle qui se transforme à l'air libre en indigo.

Mais si les solutions d'indoxylsulfates sont concentrées, la formation d'indigo n'a pas lieu immédiatement et on peut, si on a usé d'acide chlorhydrique fort pour décomposer l'indican, conserver la solution d'indoxyle parfois pendant vingt-quatre heures sans avoir la moindre transformation en indirubine ni en indigotine. Les acides organiques le décomposent moins rapidement.

L'acide indoxylsulfurique n'est pas précipité par l'acétate neutre de plomb ni par le sous acétate, mais l'est par l'acétate ammoniacal de plomb.

Traité en solution par le chlorure de baryum, il ne précipite qu'après une ébullition prolongée avec de l'acide chlorhydrique.

Une solution d'« indican » pur traitée par l'acide phosphotungstique et quelques gouttes d'acide sulfurique, ne donne aucun précipité; le liquide se colore un peu au bout de quelques jours et présente une teinte violette due à l'indigo mis en liberté par l'acide sulfurique ajouté.

Des cristaux d'indoxylsulfate chauffés dans un tube à essai bien sec, se décomposent et donnent des vapeurs rouge cramoisi très dense d'indigotine qui se déposent sur les parois supérieures plus froides.

L'indoxylsulfate de potasse, injecté sous la peau, passe en nature dans l'urine sans décomposition; tout au plus, si une petite partie est décomposée, c'est une fraction très secondaire. HOPPE-SEYLER (1883). *Zeitschr. physiol. Chem.* 8-79) injecta 2 gr. 7 d'indoxylsulfate de potasse à divers endroits sous la peau d'un petit chien de quatre kilogs en alimentation constante; l'urine qui contenait dans les deux jours précédents 1 gr. 1750 de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  préformé et 0 gr. 0613 de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  conjugué (Rapport 18,8) donna dans les deux jours qui suivirent l'injection: 1 gr. 1247 de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  préformé et 0 gr. 4320 de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  conjugué (Rapport 2,6). Le volume d'urine avait plus que doublé et l'animal présentait une soif intense. L'urine ne montrait pas de réduction anormale ni de rotation au polarimètre; elle donnait une grande quantité d'indigo par la réaction de Jaffé. Malheureusement, l'animal mourut le troisième jour après avoir éprouvé une assez vive réaction locale et avant que tout l'indoxyle injecté fut éliminé.

## ETUDE DES INDOXYLGLYCURONATES

BAUMANN étudiant l'élimination urinaire de l'acide sulfurique conjugué dans l'urine après absorption d'indol, constata que cette quantité d'acide n'est pas toujours aussi considérable que l'élimination d'indoxyle et fut

conduit à penser qu'à côté de la conjugaison sulfurique, il en existe une autre.

SCHMIEDEBERG et MEYER remarquent en 1879 que le camphre s'élimine à l'état de combinaison glycuronique: acide camphoglycuronique et SCHMIEDEBERG observa la même chose pour les phénols. Par la suite, E. et H. KÜLZ signalèrent le même fait à propos de nombreux corps à fonction aldéhydique ou phénolique: chloral, antipyrine, xylène, terpènes, thymol, hydroquinone, résorcine, pyrocatechine, etc....

Par analogie, on pensa que la combinaison de l'indol qui au cours des recherches de BAUMANN était restée inconnue devait être un dérivé glycuronique.

HERVIEUX fut tout d'abord de cet avis, appuyant son affirmation sur la constatation que l'urine contenant ce chromogène est réductrice et lévogyre: ces deux propriétés faisaient penser à un sucre, l'analogie faisant croire que ce sucre était l'acide glycuronique. Mais ayant par la suite observé que toutes les urines sont normalement lévogyres et d'autre part, qu'une combinaison indoxyle — acide glycuronique devait avoir sa fonction réductrice bloquée, il revint sur sa première opinion.

Dans le but d'intensifier le chromogène, il chercha à obtenir expérimentalement des urines très concentrées en indoxyle. Et c'est au cours de ces essais qu'il constata qu'il avait eu raison tout d'abord; le chromogène est bien un indoxylglycuronate qu'il appela chromogène indigurique. Il réussit à l'isoler à l'état presque pur, mais ne put jamais l'obtenir cristallisé.

Voici la méthode qu'il employa pour arriver à ce résultat: l'urine traitée par l'acétate neutre de plomb était ainsi privée de ses sels minéraux, de l'acide urique et de ses matières colorantes, mais non pas des deux chromogènes indoxyliques. Le filtrat limpide était additionné d'acétate basique de plomb qui précipitait le chromogène « indigurique » grâce à l'action de ce réactif sur les sucres, mais sans toucher aux indoxylsulfates; ce qui séparait du même coup les deux chromogènes. Dans le précipité, on faisait passer un courant de  $H^2S$  en solution alcaline pour précipiter le plomb et la liqueur, après séparation de ce précipité, était concentrée. Le produit ainsi obtenu n'a jamais cristallisé. Cependant, c'était bien le chromogène glycuronique: le liquide est riche en indoxyle; par hydrolyse chlorhydrique, il ne donne pas les réactions de l'acide sulfurique, mais celles de l'acide glycuronique.

1) *Réaction avec l'orcine (BIAL).*

Dans un tube à essais, verser un peu de la solution indigurique et un volume égal du réactif suivant :

|                                        |                     |
|----------------------------------------|---------------------|
| HCl . . . . .                          | 500 cm <sup>3</sup> |
| orcine pure . . . . .                  | 1 gramme            |
| Fe Cl <sup>3</sup> officinal . . . . . | XXV gouttes         |

Porter à l'ébullition. Le liquide se colore peu à peu en vert bleu ; à froid, il se forme un dépôt de matière colorée foncée, soluble dans l'alcool amylique en vert foncé. Au spectroscope, cette solution amylique présente une bande située dans le jaune orangé. On obtient la même réaction avec les pentoses en général, mais là, il suffit de chauffer très légèrement, tandis que dans le cas de l'acide glycuronique, il faut faire bouillir.

2) *Avec la phloroglucine chlorhydrique (TOLLENS).*

Porter à l'ébullition un mélange à partie égales de quelques centimètres cubes d'urine et d'acide chlorhydrique auquel on a ajouté une petite pincée de phloroglucine : il se développe une coloration brun rouge passant dans l'alcool amylique et présentant, au spectroscope, une bande d'absorption entre les raies D. et E.

3) *Réaction de Bela de Bitto.*

Le liquide glycuronique additionné de solution alcoolique de méta-dinitrobenzène et de quelques gouttes de lessive de soude est chauffé : on voit apparaître des stries rouges et le liquide prend facilement une teinte uniforme violette.

4) *Réaction de Molish.*

La solution glycuronique très diluée est traitée par une solution à 20 % d' $\alpha$  naphthol (quelques gouttes), puis par un égal volume de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  concentré. On obtient une coloration violette se transformant en un précipité violet qui se dissout en jaune dans l'alcool et l'éther.

Nota. — Si on opère sur de l'urine, il faut avoir soin, avant de pratiquer cette réaction de se débarrasser de toute trace d'albumine, la réaction de Molish étant également donnée par ce corps.

Toutes les réactions précédentes sont attribuables à la nature pentosique de l'acide glycuronique et ne sont pas, à elles seules caractéristiques. Cel-

les qui suivent sont dûes à des produits de décomposition de l'acide glycuronique, notamment au furfurool. La concordance de ces deux groupes réactionnels est caractéristique. Le saccharose donne dans certaines conditions du furfurool, mais le saccharosè est un hexobiose et ne donnerait pas les réactions que nous venons de citer, propres aux pentoses.

« Distiller au bain d'huile le liquide contenant l'acide glycuronique avec 100 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique de densité 1,06 qu'on fait couler progressivement dans le ballon. Les liquides recueillis sont neutralisés par CO<sup>3</sup>Na<sup>2</sup> et additionnés de petite quantité de NaCl ». On obtient ainsi le furfurool qu'on peut enlever par l'éther (HERVIEUX).

Le furfurool est décelé par le réactif à l'acétate d'aniline :

|                                 |                   |
|---------------------------------|-------------------|
| Aniline . . . . .               | 5 cm <sup>3</sup> |
| CH <sup>3</sup> .COOH . . . . . | 2 cm <sup>3</sup> |
| Eau . . . . .                   | 5 cm <sup>3</sup> |
| Alcool à 95° . . . . .          | 5 cm <sup>3</sup> |

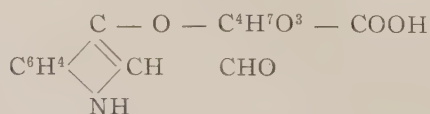
avec lequel il donne une teinte rouge grenadine voisine de la teinte de la solution alcoolique d'éosine, teinte d'autant plus fugace que le liquide est moins riche en furfurool.

Le liquide renfermant le furfurool donne également une coloration vert foncé se formant lentement à froid avec la phloroglucine chlorhydrique.

Le liquide indigurique de HERVIEUX, traitée par NO<sup>3</sup>H ou Br, suivant le procédé de THIERFELDER (*Béritché*, 19, 3148, 1886) donne de l'acide saccharique COOH-(CHOH)<sup>4</sup>-COOH dont le sel d'argent a les mêmes propriétés que le saccharate d'argent obtenu à partir du glucose.

*Réaction de Tollens à la naphtorésorcine.* — Présentée comme caractéristique de l'acide glycuronique : chauffer l'urine ou le liquide glycuronique additionné d'un peu de naphtorésorcine et d'acide chlorhydrique : on obtient une coloration bleue passant dans l'éther et la solution éthérée présente une bande sur la raie D du spectre.

Les auteurs qui les premiers pensèrent à l'acide glycuronique combiné à l'indoxyle comptaient au nombre de leurs arguments le fait que l'urine qui contient ce chromogène est réductrice, ce qu'ils expliquaient en donnant pour formule à l'acide indoxyl-glycuronique



HERVIEUX démontra que l'urine d'un animal en forte décharge indigurique examinée aussitôt après l'émission n'est nullement réductrice — c'est donc que la fonction aldéhyde n'est pas libre — mais au cours de la fermentation urinaire, le chromogène est dédoublé, le groupement  $\text{—CHO}$  apparaît et l'urine réduit alors le réactif cupro potassique. Il résumait les propriétés de cette urine dans ce schéma :

1° urine dès l'émission : non réductrice ;

2° au début de la fermentation : faiblement réductrice par suite de la mise en liberté par dédoublement du chromogène, de petites quantités d'acide glycuronique ;

3° urine en état de fermentation avancée : n'est plus réductrice, l'acide glycuronique ayant été la proie des germes microbiens.

Nous verrons plus loin quelle est la formule de constitution du chromogène qui semble le mieux expliquer ces faits.

L'acide glycuronique est dextrogyre  $\alpha_D = + 19^\circ-4$ . Mais sa conjugaison indoxylrique est lévogyre. Nous avons vu plus haut que ce caractère physique de l'urine indigurique avait un moment égaré HERVIEUX qui opérait sur l'urine d'un chien au régime de la soupe au pain, auquel il faisait absorber de fortes doses d'indol qui communiquait à son urine un fort pouvoir levogyre. Constatant un peu plus tard que toutes les urines sont normalement plus ou moins lévogyres, HERVIEUX avait mis en doute que le conjugué de l'indoxyle qui apparaissait dans son expérience sur le chien fut l'acide glycuronique. Tout s'expliqua à la lumière des travaux de GRIMBERT et BERNIER sur la réaction de Cammidge.

En 1904, un auteur anglais CAMMIDGE (*The Lancet*, 19 mars 1904) avait publié des travaux sur une osazone particulière qui prenait naissance dans certaines urines. Sa technique telle qu'il la donna tout d'abord comprenait deux réactions A et B, assez compliquées et tendant à produire une osazone dont la forme des cristaux et le temps qu'ils mettaient à se dissoudre dans  $\text{SO}^4\text{H}^2$  à 1/3 permettait de diagnostiquer les affections pancréatiques et leur genre exact : tumeurs, lésions inflammatoires, pancréatites aiguës ou chroniques, etc....

Sous l'assaut de la critique, CAMMIDGE modifia sa réaction, la simplifiant, fondant les réactions A et B en une seule : 20 cm<sup>3</sup> d'urine filtrée + 1 cm<sup>3</sup> HCl. Chauffer au bain de sable à l'ébullition qu'on maintient dix minutes. Après refroidissement, ramener le volume à 20 cm<sup>3</sup> par addition d'eau distillé. Neutraliser l'excès d'acide par 4 gr. de carbonate de plomb. Filtrer à nouveau et se débarrasser du plomb par addition au fil-

trat de 2 gr.  $\text{SO}^4\text{Na}^2$  : porter à l'ébullition et filtrer. A 10 cm<sup>3</sup> de filtrat, ajouter 8 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, 0 gr. 8 de chlorhydrate de phénylhydrazine, 2 gr. d'acétate de soude et 1 cm<sup>3</sup> d'acide acétique à 50 %. Faire bouillir dix-minutes au bain-marie et filtrer à chaud sur un verre à expérience. Par refroidissement, on obtient un précipité floconneux d'osazone ayant au microscope l'aspect de cristaux groupés en rosette.

GRIMBERT et BERNIER cherchèrent si on ne pouvait simplifier encore cette technique et si le corps donnant cette osazone existait seulement dans les urines des malades atteints d'affections pancréatiques. Ils constatèrent qu'on pouvait ramener les multiples opérations à une simple hydrolyse de l'urine par un acide minéral étendu suivie de l'addition de phénylhydrazine — et que le corps qui prend naissance au cours de cette hydrolyse existe normalement dans toutes les urines et ne possède, par suite, aucune signification clinique. BERNIER s'aperçut que l'osazone de Cammidge était en réalité un mélange de glucosazone et de glycosazone. Il montra que les insuccès de tous ceux qui avaient cherché à obtenir la glycosazone venaient du fait que l'acide glycuronique libre, au cours de la réaction tendant à produire l'osazone, subissait une lactonisation qui fausse le résultat, tandis que l'osazone se produit normalement quand on opère sur les glycuronates ; la fonction acide bloquée, la lactonisation n'a pas lieu.

A la suite de ces travaux, la réaction de Cammidge, perdait toute valeur diagnostique et l'acide glycuronique cessait d'être considéré comme étant un constituant exceptionnel de l'urine. L'observation d'HERVIEUX sur le pouvoir rotatoire de l'urine s'expliquait très bien : c'est l'acide glycuronique conjugué existant dans toutes les urines qui leur donne leur pouvoir lévogyre.

Quelle est l'origine de cet acide glycuronique qui est un des constituants normaux de l'urine ? La question paraît être très simple : il dérive du glucose par oxydation de la fonction alcool primaire. Théoriquement, c'est parfait, mais en réalité, il en est tout autrement.

Le glucose possède une fonction aldéhyde éminemment réductrice. Si on fait agir un agent oxydant sur sa molécule,  $-\text{CHO}$  se transformera en  $-\text{COOH}$  et nous aurons l'acide glyconique :



Poussons plus loin l'oxydation, nous tombons sur l'acide saccharique :



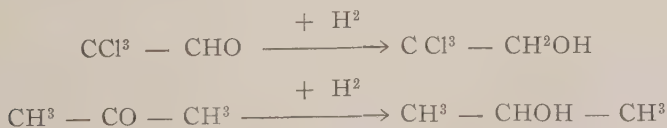
Pour arriver par cette voie à l'acide glycuronique, il faudrait alors supposer une réduction s'opérant sur l'acide saccharique et ramenant une fonction acide au stade aldéhyde; le laboratoire peut réaliser quelque chose d'approchant: production d'acide glycuronique par réduction de la lactone saccharique par l'amalgame de sodium — une fonction acide est bloquée sous la forme lactonique, l'autre, libre, est réduite et on retombe sur l'acide glycuronique en ouvrant par saponification la liaison lactonique. Mais ceci est bien invraisemblable dans l'organisme. Et une observation faite au cours des expériences qui mirent en évidence la présence d'acide glycuronique dans l'urine va nous aiguiller dans une autre direction, c'est que l'acide glycuronique n'existe jamais à l'état libre dans l'organisme, mais toujours à l'état conjugué. Il ne faut pas croire, par conséquent, qu'une certaine quantité d'acide glycuronique se tient dans l'organisme, prêt à se conjuguer avec l'indoxyle ou d'autres corps. C'est donc que cet acide se formerait à mesure des besoins.

D'autre part, certains corps ont le pouvoir de s'unir au glucose en bloquant la fonction aldéhyde pour donner des glucosides.

Si on oxyde modérément un glucoside de façon à ne pas détruire sa molécule, l'oxydation portera sur la fonction alcool primaire restée libre, donnant ainsi un corps à fonction acide.

Les corps qui peuvent s'unir au glucose sont nombreux et parmi eux, nous en trouvons justement un certain nombre, qui, ingérés, se retrouvent dans l'urine sous forme de conjugués glycuroniques: indol, menthol, camphre, etc...

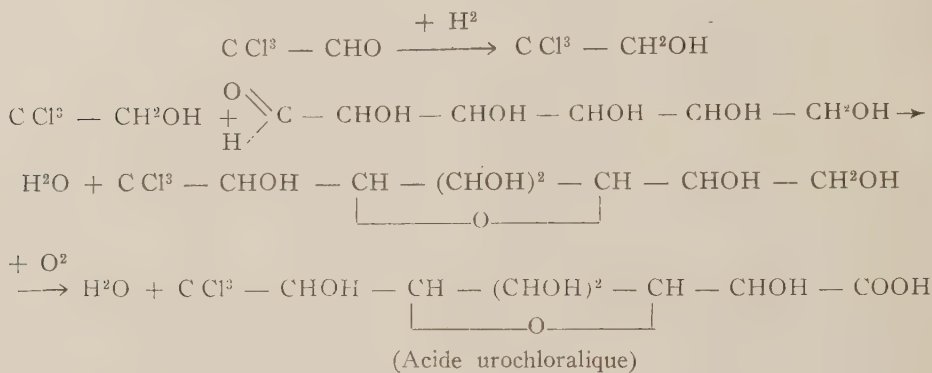
La copulation avec le glucose se fait, en général, aux dépens d'un oxyhydrile alcoolique ou phénolique, prenant naissance soit par oxydation, soit par réduction préalable — les aldéhydes sont ramenés à la forme alcool primaire, les cétones, donnent des alcools secondaires, le choral donnera par exemple, le trichloréthanol.



Les corps aromatiques sont transformés en phénols, naphhtols, alcools aromatiques, les amines aromatiques en aminophénols.



L'indol se transforme en indoxyle (1), le camphre ,en campherol, l'anti-pyrine en oxantipyrine, etc... Ainsi oxhydrilés, ces corps se combinent au glucose par perte d'une molécule d'eau entre cet oxhydrile, le carbone aldéhydique et la fonction alcool secondaire en position  $\beta$  du glucose et il en résulte un glucoside de forme oxydique sur lequel une oxydation ultérieure amènera la transformation de l'alcool primaire en acide :



qu'on retrouve dans l'urine après ingestion de chloral.

Tout les dérivés ainsi obtenus sont lévogyres.

Par hydrolyse, il y a scission entre l'acide glycuronique et le conjugué :



et la déviation de la lumière polarisée peut alors changer de sens, l'acide glycuronique étant dextrogyre.

Normalement, l'acide glycuronique se trouve dans toutes les urines, conjugué à l'indoxyle comme l'a montré BERNIER.

Il est logique de penser que ces réactions s'opèrent dans la cellule hépatique où se fait déjà la sulfoconjugaison de l'indol et où la grosse réserve hydrocarboné de glycogène donne facilement le glucose tandis que l'indol est amené par la veine porte.

---

(1) Nous avons vu plus haut que l'indoxyle est instable dans l'organisme et n'existe pas à l'état libre. Il doit se former d'abord un complexe additionnel indol-glucose (par suite de la fonction aldéhyde du glucose réagissant sur l'indol) et ce complexe subit alors une double oxydation conduisant à l'acide indoxyl-glycuronique.

On arrive ainsi à penser que la glycuronurie serait un témoin de l'activité hépatique.

La quantité d'acide glycuronique que renferme l'urine varie suivant la nature de l'alimentation : un régime carné l'augmente, elle diminue avec un régime végétarien et peut parfois même disparaître sous l'influence du régime lacté ou de l'inanition, ces variations étant sous la dépendance des fermentations intestinales. D'autre part, l'abolition de la glycogénie a pour conséquence de faire disparaître la glycuronurie.

Pour savoir exactement si la diminution ou l'absence d'acide glycuronique est dûe au régime ou à l'insuffisance hépatique, on a institué l'épreuve dite de la glycuronurie provoquée : elle consiste à introduire dans l'organisme une des substances que nous savons capable de s'unir au glucose pour donner un complexe oxydable : chloral, menthol, camphre, etc..., appelés glycuformateurs. Dans le cas de carence de glycogène et dans ce cas seulement, la glycuronurie n'apparaîtra pas ou demeurera pratiquement nulle. La glycuronurie fait défaut dans la cirrhose de LAËNNEC, est exagérée dans le cas d'ictère par rétention — ceci, en rapport avec l'augmentation des putréfactions intestinales —. Quant à la fin des ictères par rétention, la réserve glycogénique est épuisée, l'acide glycuronique cesse d'être excrété et c'est l'indice d'une mort prochaine. Le même pronostic peut être établi dans les cas de septicémies et de toxémies.

---



## CHAPITRE IV

---

# L'INDOXYLE DANS LE SANG

---

Après avoir assisté à la genèse de l'indol dans l'intestin sous l'influence des bactéries de la fermentation, nous avons suivi par la voie veineuse cet indol, pendant un court trajet, jusqu'au foie. Là, il a subi diverses influences; une partie, sans doute, a été détruite, mais en grande part, il a été transformé, oxydé en indoxyle et conjugué aux acides sulfurique et glycuronique, la conjugaison glycuronique ne portant, dans les conditions habituelles, que sur une faible quantité. L'indol, ainsi transformé va s'éliminer de l'organisme par l'urine. Or, le trajet du foie jusqu'à la sortie, c'est-à-dire jusqu'au rein, emprunte à nouveau la voie sanguine. Du foie, par la veine sus-hépatique et la veine cave inférieure, il va gagner la circulation générale et c'est au milieu sanguin que le rein l'empruntera.

Il était donc logique de croire à l'existence des chromogènes indoxyliques dans le sang, mais on pouvait se demander s'ils existaient en quantité telle qu'il fut possible de les mettre en évidence, le rein ayant un pouvoir de concentration assez grand pour faire apparaître dans l'urine un corps pratiquement indécélabable dans le sang.

Autrefois, la présence d'indoxyle dans le sang et dans la sueur était considérée comme exceptionnelle (*Traité de Physiologie* de BEUNIS, I. page 213).

En 1904, HERVIEUX utilisant le réactif de BOUMA à l'isatine chlorhydrique mit l'indoxyle en évidence dans le sérum de cheval. Mais la dose qu'il décéla était excessivement faible à en juger par la technique qu'il dut employer :

Un litre de sérum est étendu de son volume d'eau puis porté au bain-maire additionné d'acétate basique de plomb pour aider la précipitation de l'albumine; après séparation de celle-ci, on élimine le plomb par  $\text{SO}_4\text{Na}^2$ . On filtre et on alcalinise par  $\text{CO}_3\text{Na}^2$ ; on concentre jusqu'à environ 20 cm<sup>3</sup> et on mélange cette solution à son volume d'isatine chlorhy-

drique; on porte sept minutes au bain-marie. Après refroidissement, agiter avec du chloroforme et décantier celui-ci qui a pris une teinte légèrement jaunâtre, ne devenant rose qu'après quelques lavages avec une solution de KOH à 2 o/oo.

La découverte d'HERVIEUX passa à peu près inaperçue. La présence d'indoxyle en quantité plus ou moins grande n'avait éveillé aucun intérêt. Il faut attendre l'année 1911 pour que l'école allemande reprenne l'étude de la question.

Les travaux de WIDAL sur l'urémie et les néphrites avaient mis en lumière le rôle de témoin d'intoxication que joue l'urée dans le syndrome urémique et WIDAL avait pu énoncer sa loi: une teneur du sang de 0 gr. 50 à 1 gr. d'urée constitue une azotémie d'alarme sans signification pronostique précise — 1 gr. à 2 gr. d'urée laissait prévoir la mort dans le délai d'un à deux ans — au-dessus de 3 gr., la mort est imminente. Ces chiffres ne valent qu'à condition d'être observés au cours d'examens répétés et en dehors des poussées aiguës quelquefois observées au cours des azotémies chroniques. Ces valeurs de l'urée, pour avoir la signification que WIDAL leur conférait doivent présenter un caractère de progressivité manifeste; ils n'ont aucune valeur dans les azotémies aiguës ou chirurgicales.

Mais il y a des cas où la loi de WIDAL paraît absolument dépourvue de valeur; à côté de certains cas où des sujets porteurs de doses d'urée sanguine énormes jouissent d'aspect floride et de survie prolongée, il y a l'inverse, des urémies sans azotémie (Mlle GIRAUD, PASTEUR-VALLÉRY-RADOT, BROUARDEL et RENARD. Ces cas paradoxaux ont amené à chercher à mettre en évidence d'autres éléments diagnostiques et pathogéniques de l'urémie que l'urée sanguine.

On s'est alors tourné vers l'azote résiduel. Quand l'urée est seule retenue, qu'il y a simplement uroémie, il n'y a pas d'accidents (CHABANIER), mais quand ceux-ci apparaissent, le taux de l'azote résiduel qui, normalement oscille entre 0 gr. 120 à 0 gr. 150 atteint 0 gr. 50 à 0 gr. 60 et plus. Mais ici également, on a des exceptions et on voit des urémies mortelles avec très grosse uroémie et un taux normal d'azote résiduel (LAUDAT, SIGURET).

Il n'y a rien qui surprenne étant donnée la grande complexité de cet azote résiduel où entrent des corps de toxicité très variable.

Poussant plus loin la recherche, des auteurs se sont attaqués aux constituants de l'azote résiduel.

Certains ont étudié la créatinine et les variations de son taux sanguin mais sans rencontrer le succès qu'ils espéraient.

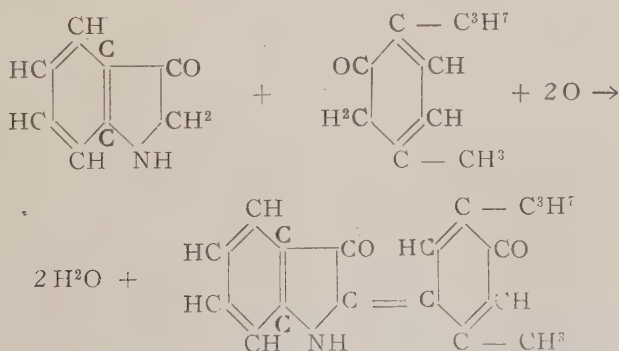
C'est alors que des auteurs, de langue allemande en particulier, ont pensé trouver la clef dans la rétention des corps aromatiques. De nombreux travaux furent publiés.

OBERMAYER et POPPER (1911) remarquèrent que chez les sujets présentant un état pathologique autre que l'urémie ou même chez des néphritiques aigus ou chroniques en dehors des poussées urémiques, la réaction d'OBERMAYER sur le sérum était négative; chez des néphritiques chroniques présentant des phénomènes urémiques, en opérant sur 10 cm<sup>3</sup> de sérum, on a une réaction d'OBERMAYER nettement positive et cette réaction a une valeur pronostique, car sur vingt-quatre cas d'urémie avec indicanémie, vingt-trois moururent rapidement et le dernier, après une rémission apparente, mourut également.

DORNER, trois ans plus tard, conclut également que l'indoxyle sanguin est un témoin aussi fidèle que l'urée. Il signala en outre la présence d'indoxyle dans les liquides pleuraux et ascitiques et son absence dans le liquide céphalo-rachidien.

Pour TCHERKOFF (1914-1917) « L'indicanémie apparaît quand l'urée sanguine atteint 1 gr. 50 par litre... Elle persiste jusqu'à la fin dans les cas qui évoluent vers la mort... elle indique qu'il s'agit d'une insuffisance rénale grave ».

*Réaction de Jolles.* — Cette réaction est basée sur l'oxydation par Fe Cl<sup>3</sup> en milieu chlorhydrique d'un mélange de thymol et d'indoxyle, les deux corps réagissant sous la forme tautomère cétonique pour donner un colorant qui passe en rose pâle dans le chloroforme.



Le corps qui prend naissance se forme à partir d'une seule molécule

d'indoxyle alors que la formation d'indigotine par la réaction d'OBERMAYER nécessite 2 molécules d'indoxyle. La réaction de JOLLES est donc plus sensible que celle d'OBERMAYER, de sensibilité égale à celle du réactif de BOUMA.

Elle se prête à un dosage colorimétrique.

JOLLES estimant qu'un taux d'indican dans le sang de 0 mgr. 14 pour 100 cm<sup>3</sup> correspond à une insuffisance rénale, se place dans des conditions opératoires telles que la limite de sensibilité de la réaction soit voisine de ce taux :

3 cm<sup>3</sup>. de sérum sont additionnés de volume égal de CCl<sup>3</sup>-COOH à 20 %. Centrifuger. Prélever 2 cm<sup>3</sup>, 5 du liquide clair qu'on additionne de 1 cm<sup>3</sup> de solution alcoolique de thymol à 5 % et de 10 cm<sup>3</sup> de réactif d'OBERMAYER. Il faut avoir grand soin de mettre d'abord la solution de thymol, car si on inverse, si on ajoute d'abord le réactif d'OBERMAYER, celui-ci exerce son action oxydante sur l'indoxyle avec formation de couleur indigotique et la part d'indoxyle ainsi oxydée est perdue pour la réaction de JOLLES, d'où erreur par défaut. Après vingt minutes de contact, le mélange est agité avec 2 cm<sup>3</sup> de chloroforme et laissé en repos une demi-heure, après quoi, on observe la coloration du chloroforme qu'on pourra doser au colorimètre.

Cette technique peut également se prêter à la recherche et au dosage de l'indoxyle urinaire.

Utilisant la réaction de JOLLES, HAAS montra que le sérum normal contient un taux physiologique d'indican variant entre 0 mgr. 26 et 0 mgr. 82 par litre de sérum sans être influencé sensiblement par le mode d'alimentation. Dans les affections intestinales, surtout dans l'occlusion, le taux s'élève. Mais c'est au cours des lésions rénales qu'on note les indicanémies les plus fortes. Le chiffre limite donné par HAAS est un peu plus élevé que celui de JOLLES: on peut affirmer qu'il y a insuffisance rénale quand il y a une indicanémie supérieure ou égale à 1 mgr. 80 par litre de sérum. L'indicanémie est un symptôme d'insuffisance rénale plus précoce que l'augmentation de l'azote résiduel ou l'urée. HAAS observa des cas où il y avait une réaction d'OBERMAYER positive malgré un azote résiduel normal; dans tous les cas où l'azote résiduel est élevé, l'indicanémie est augmentée mais on ne note jamais l'inverse, c'est-à-dire une valeur basse d'indicanémie coïncidant avec un azote résiduel augmenté.

ROSENBERG est moins catégorique: Si on voit une indicanémie supérieure à 1 mgr. 3, il ne faut conclure à des lésions rénales que si on ne

voit pas d'autres affections capables d'expliquer ce chiffre : troubles digestifs, tumeurs hépatiques, occlusion intestinale, anurie mécanique... Sous cette réserve, on constate que l'indicanémie est précoce, constante, extrêmement marquée et très persistante dans la néphrite chronique ; elle peut apparaître alors que le taux de l'urée sanguine est encore normal.

Expérimentalement, FRANCKE étudia les rapports qui existent entre l'augmentation de N résiduel et des corps aromatiques dans le sang d'une part et les lésions rénales d'autre part. Chez le chien, quand l'évolution de la maladie fut rapide, l'augmentation des deux corps (azote résiduel et corps aromatiques) dans le sang fut brutale et l'examen histologique des reins révéla des altérations pathologiques intenses. Il y a parallélisme, mais pas rigoureux, entre le taux de l'azote résiduel et celui des corps aromatiques, ce dernier s'élevant moins vite que celui de N résiduel.

Ce défaut de parallélisme absolu s'explique par les origines différentes des constituants de l'azote résiduel dont les corps aromatiques sont un élément constitutif. Mais si grossier soit-il, ce parallélisme prouve qu'il existe à la base un facteur commun : l'insuffisance rénale. En sacrifiant les animaux, on voit dans les reins une altération de l'épithélium des tubes contournés dans le cas où il y avait eu augmentation de l'azote résiduel et des corps aromatiques, les glomérules et les épithéliums des tubes médullaires étant peu touchés.

Pour KLEIN, l'indoxyle du sang croît comme l'urée, mais ce parallélisme est rompu quand l'insuffisance rénale s'accompagne de néphrite hydropigène, de coma diabétique, de dyshépathie grave ; l'exagération des désintégrations protéiques nuirait alors aux conjugaisons indoxyliques et l'indoxylémie baisserait aux phases ultimes de l'urémie. Ceci est parfaitement d'accord avec une observation de THIERS : chez une malade présentant une azotémie progressive consécutive à une compression des uretères par un néoplasme pelvien, l'indoxylémie a varié parallèlement à l'indoxylurie et toutes deux ont régressé sensiblement alors que l'azotémie progressait.

Marthe GIRAUD, sous la direction de DERRIEN, montra que les auteurs allemands n'avaient pas su décélérer l'indoxyle dans le liquide céphalo-rachidien, non parcequ'il n'existait pas, mais sans doute par une faute de technique.

Elle le mit en évidence dans ce milieu en utilisant la méthode de VILLE : désalbuminer le sérum par un volume égal de  $\text{CCl}_3\text{-COOH}$  à 20 %, traiter 10  $\text{cm}^3$  du filtrat par 10  $\text{cm}^3$  de  $\text{HCl}$  concentré et 2 gouttes de réac-

tif de VILLE comme oxydant modéré et lent. Ajouter 2 cm<sup>3</sup> de chloroforme; par agitation, le chloroforme se colore en bleu plus ou moins intense. Le réactif de VILLE se prépare de la façon suivante: dissoudre 1 gr. AuCl<sup>3</sup> dans 50 cm<sup>3</sup> d'eau, ajouter 15 cm<sup>3</sup> KOH normale; à cette solution alcaline d'aurate de potassium, ajouter 10 à 15 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique pur et porter au volume de 82 cm<sup>3</sup> par addition d'eau distillée.

A l'aide de cette méthode Mlle GIRAUD put voir que non seulement le liquide céphalo-rachidien contient de l'indoxyle, mais que les taux respectifs d'urée et d'indoxyle sont sensiblement les mêmes, qu'on effectue le dosage sur le sérum, les liquides pathologiques (ascite, liquide pleural, pus...) ou le liquide céphalo-rachidien, observation de très grande portée pratique.

Elle montra que, pas plus que l'urée, l'indoxyle dans le sang ne peut être considérée comme un test d'urémie jamais en défaut. Les cas d'indoxylémie assez forte sont excessivement nombreux. Il suffit pour s'en rendre compte de constater la coloration rose que prennent fréquemment les sérums déféqués à l'acide trichloracétique, coloration due à l'indoxyle partiellement oxydée.

En outre, dans des cas cliniques analogues on trouve à côté de doses d'urée très voisines, des indoxylémies absolument différentes. Mlle GIRAUD signale une différence très nette d'indoxylémie entre deux sérums prélevés sur le même malade à quelques jours d'intervalle, alors que l'urée se tenait très stable à un taux voisin de 2 gr. 10 par litre.

Danèle MICHETTI observait dans le même esprit qu'une hyperindicanémie supérieure à 1 mgr. 6 0/00 révèle l'augmentation de production intestinale d'indol et une certaine imperméabilité rénale. L'existence ou l'absence d'hyperindicanémie n'a donc pas de valeur absolue pour le diagnostic de l'imperméabilité rénale et il n'y a aucun parallélisme ni aucune relation entre l'azotémie et l'indicanémie.

D'après PHOCAS l'hyperindoxylémie est un signe auquel il faut attribuer sa juste valeur; elle est sous la dépendance de deux facteurs:

- 1) une forte production intestinale d'indol — qui est le facteur principal;
- 2) une certaine imperméabilité rénale — facteur secondaire.

Il peut y avoir imperméabilité rénale sans hyperindoxylémie dans le cas où l'accroissement des conditions génératrices d'indol ne se produit pas.

C'est ce qui avait déjà été observé par THIERS. Insistant sur une re-

marque de BÉCHER, il écrivait que pour qu'il y ait indoxylémie, il faut qu'il y ait indoxylurie, l'organisme ne pouvant retenir l'indoxyle que s'il en fabrique. Là où était l'erreur, c'est que, pour THIERS, la production d'indoxyle se traduisait par son passage dans l'urine. D'après cela, lorsque chez un briglitique on ne trouve pas d'indoxyle urinaire, c'est l'indication que l'organisme n'en produit pas et qu'il n'y a pas rétention de ce corps. Il faut alors rechercher un autre témoin de l'intoxication azotée.

Or, ceci est absolument illogique. Si la perméabilité rénale est diminuée, l'intestin peut cependant être le siège de fermentations actives — et il en est presque toujours ainsi chez les urémiques dont les fonctions digestives sont fortement troublées. La forte production d'indoxyle n'arrive alors pas à s'éliminer. Le taux d'indicanémie devrait alors monter et d'autant plus que l'imperméabilité est plus grande, partant, que l'indoxylurie est plus faible. PHOCAS remarquait que si l'augmentation d'indican sanguin traduisait simplement l'insuffisance rénale, il devrait y avoir une diminution d'indican urinaire et à une indicanémie croissante, correspondrait une indoxylurie décroissante.

THIERS, au lieu de cette décroissance, constatait un parallélisme.

RATHERY et SIGWALD ont publié des observations qui infirment l'opinion de THIERS. Ils rapportent des cas où pour des taux d'urée sanguine de 2 gr. à 3 gr., avec une réserve alcaline fortement diminuée et une indoxylémie forte, l'indoxylurie était nulle ou très faible. Mlle GIRAUD avait déjà signalé le cas d'un malade chez lequel la réaction de l'indoxyle était, vers la fin de la maladie, devenue plus intense dans le sérum que dans l'urine. Mais elle notait que ce sujet était traité depuis quelques temps par des injections massives de sérum glucosé. Ceci pouvait amener une forte conjugaison glycuronique de l'indoxyle, ce chromogène prenant le pas sur le chromogène sulfurique; or ce dernier est beaucoup plus facilement éliminé par le rein. On entrevoit donc l'explication d'une rétention dans le cas envisagé. Mais on voit surgir un nouveau facteur de variabilité de l'indoxylémie: les apports hydrocarbonés et la nature du chromogène.

Une thèse de médecine inspirée par THIERS soutenue à Lyon en 1930, par KRAUTHAMMER défend les théories allemandes. Pour l'auteur la réaction de JOLLES est toujours négative, pratiquée sur le sérum des malades atteints de néphrite aiguë et même de néphrite chronique azotémique en dehors des accidents urémiques. « Elle peut, par contre, devenir positive quand éclatent les troubles urémiques... Dans les cas que nous avons pu

suivre longtemps, nous avons été frappés, comme les auteurs allemands, par le fait que l'urée présente des oscillations souvent considérables alors que l'indicanémie reste à peu près constante. »

Rappelons, à l'encontre de ces assertions, que RATHERY, SIGWALD ont signalé de l'hyperindoxylémie en dehors de toute néphrite : dans la pneumonie, l'éclampsie de la grossesse, les infections intestinales, l'occlusion, etc...

Tout ce que nous avons rapporté et la lecture de tableaux d'observations publiés par différents auteurs nous font penser qu'il est dérisoire de parler de la constance de l'indoxylémie. KLEIN et THIERS n'ont-ils pas signalé une forte baisse de l'indoxylémie à la phase terminale ? Les auteurs allemands eux-mêmes ont signalé des urémies sans indoxylémie. Il existe des indoxylémies sans azotémie. Dans l'évolution d'une même urémie, on a noté des fluctuations du taux d'indoxyle sanguin. KRAUTAMMER lui-même, malgré son vif désir d'étayer les travaux allemands reconnaît une valeur pronostique à l'indicanémie au cours des néphrites, mais ajoute que « le pronostic des néphrites doit avant tout être un pronostic clinique... L'indicanémie a une valeur aussi grande que l'urée, elle ne lui est pas supérieure non plus ».

L'ensemble de ce que nous venons de rapporter nous autorise à dire qu'elle a une valeur inférieure à l'urée.

On voudrait faire jouer un rôle de témoin d'une affection rénale grave à un corps qui est sous la dépendance de conditions extra-rénales : alimentaires et intestinales, à la base, pour la production d'indol — hépatiques, alimentaires ou thérapeutiques pour le mode de conjugaison.

L'indoxyle sanguin ne doit légitimement être considéré que comme un des nombreux constituants de l'azote résiduel et il ne faut pas attendre de son étude plus qu'elle ne peut donner.

Le problème de l'intoxication urémique ne doit pas être envisagé en séparant les éléments qui le constituent, mais au contraire, d'une façon beaucoup plus générale : imperméabilité rénale liée au trouble du métabolisme. « Le terme d'intoxication urémique répond moins à l'existence dans le sang de substances réellement nocives, agissant à la manière de poisons, qu'à celle de troubles cellulaires dépendant d'une modification chimique ou physico-chimique du milieu organique » (PUECH).

La présence de ceratins corps azotés dans le sang indique un trouble de la nutrition de l'organisme ; les tissus déversent dans le milieu sanguin qui les baigne des produits de déchets plus ou moins dégradés, tels que la

créatinine, des polypeptides, et le rein malade ne parvient pas à les éliminer.

Cette rétention s'applique à d'autres substances d'origine exogène tels les corps aromatiques dont l'action toxique vient accroître le trouble des tissus.

Mais vouloir mesurer ce trouble par l'indoxyle nous semble une erreur, l'indoxyle n'étant pas un produit de déchet des tissus ; le rechercher et le doser dans le sang ne pourrait, au maximum, renseigner que sur le degré d'imperméabilité du rein et l'ordre de grandeur des putréfactions intestinales —, c'est-à-dire que sur une partie du problème.

L'indoxyle, d'autre part, est moins facile à doser que l'urée dans le sang. Les manipulations sont plus compliquées, plus longues, et les résultats sont, comme dans tous les dosages colorimétriques, soumis au coefficient d'évaluation personnel, variant avec chaque opérateur.

Pourquoi, dans ces conditions, abandonner l'urée comme témoin, témoin quelquefois en défaut, certes, mais pour prendre un autre corps offrant moins de certitude et plus d'irrégularités encore ?

---



## CHAPITRE V

---

# L'INDOL ET SES DÉRIVÉS DANS L'URINE

---

La présence dans l'urine de corps qui la font virer au bleu ou au rouge sous certaines influences était connue depuis fort longtemps. Si on en croit certains historiographes de la question, les premières observations remonteraient à HIPPOCRATE. Au cours des siècles derniers, de nombreux auteurs rapportent le cas d'urines bleues et émettent des hypothèses sur la nature et l'origine de cette coloration qui nous paraissent aujourd'hui des plus fantaisistes, celle par exemple que la coloration provient d'un « défaut de coction de la bile », etc...

La question était très touffue, car chacun créait une terminologie personnelle: cyanourine, urines indiques, indigoses, urorubine...., pour désigner parfois le même corps.

Non seulement quant à la nature du colorant, mais encore à la signification pathologique et physiologique, les opinions étaient des plus variées, ainsi que nous avons pu le voir au chapitre de l'Indol et ses dérivés dans les organismes vivants et on attendait beaucoup de l'étude de ces colorants.

C'est à L.-C. MAILLARD que revient l'honneur d'avoir exactement situé la question, après une longue étude des matières colorantes urinaires solubles dans l'eau. Il montra que les différentes substances décrites avant lui sous tant de vocables se ramenaient à deux couleurs indigotiques et qu'il ne fallait demander à cet examen urinaire que tout juste ce qu'il peut donner: la mesure du travail bactérien dans l'intestin.

Mais encore, cette mesure n'apparaît pas bien rigoureuse. L'indoxyle provenant de la transformation subie par le tryptophane ingéré, son taux d'élimination est lié à la valeur de ce dernier facteur. Selon le régime alimentaire de chaque individu, il peut exister des différences d'apport et pour un même degré de putréfactions intestinales, on aura une élimina-

tion d'indoxyle qui variera de l'un à l'autre, la prédominance de l'indoxyle se rencontrant tantôt — alors que tantôt au contraire, les phénols et crésols conjugués seront en proportion plus forte dans l'urine. Dans ce dernier cas, le dosage des corps indoxyliques urinaires atteindra un chiffre sensiblement normal faisait croire à un travail bactérien également normal.

Pour éviter de tomber dans cette erreur, Albert ROBIN avait proposé de faire dans l'urine le dosage du soufre conjugué et de rapporter le chiffre ainsi trouvé au soufre total : on obtenait ainsi le coefficient de fermentation putride atteignant généralement 8 à 9 %.

Ceci serait parfait si HERVIEUX, et un peu plus tard GRIMBERT et BERNIER, n'avaient mis en évidence à côté de la conjugaison sulfurique des corps aromatiques urinaires, une conjugaison glycuronique qui se fait en abondance précisément dans le cas où l'organisme doit transformer une forte quantité d'indoxyle ; le rapport  $\frac{S \text{ conjugués}}{S \text{ total}}$  peut alors être à peu près normal et cependant, coïncider avec une très forte infection intestinale.

De ce qui précède, il semble que pour mesurer avec exactitude l'activité des germes de la putréfaction digestive, il faudrait faire à la fois le dosage de l'indoxyle et rechercher la valeur du rapport d'A. ROBIN. On connaîtrait ainsi la totalité des corps aromatiques oxydés élaborés dans l'intestin.

Nous disons des corps oxydés, car il arrive que certains corps aromatiques s'éliminent sans avoir subi cette oxydation, sous la forme même où ils prennent naissance dans le tube digestif — LABAT a signalé le cas pour l'indol (*Bull. Soc. Pharm.*, Bordeaux, LVIII, p. 184, 1920) : chez un malade atteint d'un sarcome de la choroïde et d'une tumeur du lobe hépatique droit, l'urine contenait une quantité notable d'indol libre qu'il mettait en évidence par la réaction d'EHRlich sur l'épuisement étheré de l'urine préalablement déféquée. Cette découverte l'incita à faire la même recherche sur divers échantillons d'urines normales ou pathologiques ; ce qui le conduisit à penser que l'« indolurie » est chose assez fréquente.

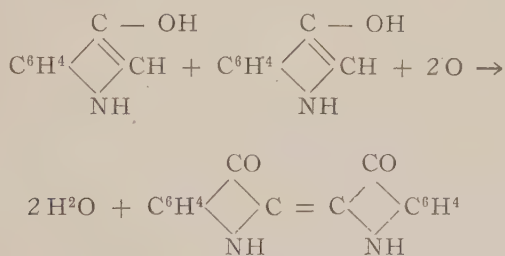
L'application du coefficient d'A. ROBIN ne tient pas compte de ce fait, non plus que certaines méthodes de recherche ou de dosage des corps indigotiques.

Au cours des chapitres précédents, nous avons déjà eu l'occasion d'exposer quelques méthodes de recherche et de dosage de l'indoxyle applicables à l'urine : réaction de JOLLES, réaction de VILLE employée par DER-

RIEN et M<sup>le</sup> GIRAUD. Passons en revue quelques-unes des autres méthodes. Toutes, sauf celle de JOLLES et celle de NICOLAS, sont basées sur la propriété que possède l'indoxyle de fournir un colorant indigotique par soudure de deux molécules (indigotine), ou par combinaison d'une molécule à noyau indolique telle que l'isatine à une molécule d'indoxyle (indogénide de l'isatine).

Toutes les méthodes, quelles qu'elles soient, ont ceci de commun qu'on opère sur l'urine déféquée, habituellement par 1/20 de son volume de sous acétate de plomb. Au filtrat, on ajoute de l'acide chlorhydrique pour hydrolyser les conjugués et libérer l'indoxyle. Ce n'est qu'à partir de ce moment qu'interviennent les différences.

Les méthodes procédant par soudure de deux molécules d'indoxyle l'une à l'autre pour obtenir de l'indigotine recourent toutes à l'emploi d'un oxydant variable avec chaque auteur; mais toujours, la réaction peut se représenter par le schéma suivant :



OBERMAYER ajoute à l'urine déféquée un volume égal de réactif constitué par un litre de HCl (d = 1,19) contenant 6 gr. Fe Cl<sup>3</sup> officinal — et il épuise par le chloroforme qui s'empare de l'indigotine en prenant une teinte bleu violacé. Mais l'emploi de Fe Cl<sup>3</sup> gêne, par sa coloration, l'appréciation de la couleur bleue quand l'indigotine existe en très petite quantité. OBERMAYER employait cependant ce procédé, avec WANG, pour doser l'indoxyle: 300 cm<sup>3</sup> d'urine déféquée par 50 cm<sup>3</sup> de solution à 1/20 de sous acétate de plomb; au filtrat, ajouter un volume égal de réactif d'OBERMAYER et épuiser trois fois, une minute chaque fois, par le chloroforme. La solution chloroformique est évaporée et le résidu lavé trois fois avec de l'eau distillée chaude, après quoi, il est mis à digérer pendant 24 heures avec 4 à 5 cm<sup>3</sup> SO<sup>4</sup>H<sup>2</sup> concentré. On étend d'eau et on ajoute de la solution de permanganate N/20 jusqu'à disparition de la coloration bleue et apparition d'une teinte brunâtre faible; chaque centimè-

tre cube de permanganate employé représente 0 mgr. 316 d'indigotine (WANG-OBERMAYER). D'après ELLINGER, il faut majorer le résultat obtenu de 1/6 pour compenser les pertes subies au cours de la manipulation.

JAFFE emploie comme oxydant, au lieu de  $\text{Fe Cl}^3$ , une solution d'hypochlorite, mais ce réactif a le défaut de détruire la matière colorante dès qu'elle se forme s'il est employé en léger excès.

LOUBION utilise l'eau oxygénée que HERVIEUX préconise également; AMANN, le persulfate d'ammoniaque.

DENIGES emploie le chlorate de potasse en solution 5/1000 qu'il fait tomber goutte à goutte dans le défécât auquel on a auparavant ajouté  $\text{HCl}$  et  $\text{CHCl}^3$ . D'après HERVIEUX, cet oxydant est à rejeter, car  $\text{HCl}$  agissant sur  $\text{ClO}^3\text{K}$  libère du chlore qui décolore l'indigo, partiellement si ce dernier est abondant, totalement s'il en a peu.

POUR MAILLARD, tous les oxydants employés seraient à rejeter parce qu'ils présenteraient l'inconvénient, s'ils sont employés en léger excès, de transformer une partie de l'indigotine en isatine; d'où, s'il y a peu d'indoxyle, risque de passer à côté.

DENIGES prétend que les persulfates et les chlorates ne suroxydent pas la couleur et n'ont aucun inconvénient et HERVIEUX affirme qu'une dilution à 1/10 de l'eau oxygénée officinale n'amène aucune transformation en isatine.

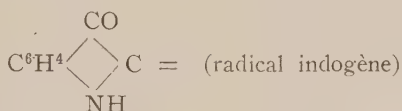
MAILLARD se contente de l'action oxydante de l'acide chlorhydrique et de l'oxygène de l'air; voici sa technique: 50  $\text{cm}^3$  d'urine + 5  $\text{mc}^3$  s/acétate de plomb. Agiter. Filtrer. Dans un tube à essais, mêler parties égales de filtrat et de  $\text{HCl}$  pur et ajouter 3  $\text{cm}^3$  de chloroforme en faisant en sorte qu'il reste au-dessus du liquide une place suffisante pour l'air. Agiter violemment et laisser reposer; le chloroforme se rassemble. S'il n'est pas coloré et dans ce cas seulement, on pourra ajouter deux gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes diluée à 1/10 et agiter à nouveau. Aspirer la partie aqueuse et la remplacer par la soude à 1 %. Agiter et reposer. S'il apparaît dans le chloroforme une coloration bleue, violette, pourpre ou rouge, on peut affirmer que l'urine contenait de l'indoxyle.

Dans le cas d'urine contenant de l'iodure, si on emploie un oxydant, l'iode est libéré et passe dans le chloroforme en donnant une coloration pourpre qui fait penser à l'indirubine. Si la recherche de l'indoxyle est faite sans autre oxydant que l'air, l'iode n'apparaît pas, mais l'iodure gêne et retarde l'oxydation de l'indoxyle. La défécation au sous acétate n'élimine qu'une faible partie de l'iodure et l'oxydation par  $\text{HCl}$  et l'air est

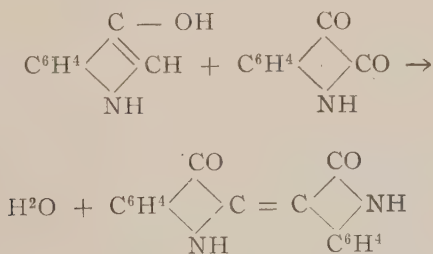
insuffisante pour mettre en évidence la totalité de l'indigotine; il faut alors ajouter quelques gouttes d'eau oxygénée diluée; l'iode et l'indigotine apparaissent en même temps dans le chloroforme, mais par les lavages de ce solvant à l'eau et à la soude, l'iode est éliminé sans qu'il soit besoin d'ajouter d'hyposulfite.

Il peut arriver que dans certaines urines ictériques très riches en pigments biliaires, au cours de la recherche de l'indoxyle, l'addition de HCl fasse apparaître une forte coloration verte qui gêne l'appréciation de la couleur indigotique. On a alors intérêt à précipiter tout au début de la recherche les pigments biliaires par le chlorure de baryum. Le filtrat est ensuite déféqué par l'extrait de Saturne et sur le défécât, on opère suivant les techniques habituelles (BELIÈRES, *J. P. C.* 1913, t. II., p. 429).

Les procédés que nous venons de décrire sont tous basés sur l'oxydation de l'indoxyle et la combinaison de deux noyaux indogènes restants :



BOUMA a donné une méthode basée sur les travaux de BÖEYER sur les indogénides : copulation de l'indoxyle avec une molécule d'isatine :



donnant naissance à une molécule d'indirubine (indogénide  $\beta$ ).

Ce procédé est beaucoup plus précis, car tandis que dans les méthodes précédentes, deux molécules d'indoxyle donnent une molécule d'indigotine, ici une molécule d'indoxyle donne une molécule d'indirubine : la réaction est donc deux fois plus sensible.

En outre, au cours de la formation de l'indigotine, il y a toujours une faible proportion d'indoxyle qui donne de l'indirubine et parfois des subs-

tances brunès qui échappent au dosage si on a recours à la colorimétrie. Avec le procédé de BOUMA à l'isatine chlorhydrique, on n'obtient rien que de l'indirubine, d'où possibilité d'un dosage rigoureux au colorimètre.

La technique donnée par l'auteur consiste à additionner l'urine préalablement déféquée au sous-acétate de plomb de son volume d'acide chlorhydrique fumant contenant 20 milligrammes d'isatine par litre. On fait bouillir une heure et après refroidissement, on épuise par le chloroforme qui s'empare de l'indirubine.

On peut faire avec cette méthode, le dosage au permanganate en continuant alors sur la solution chloroformique d'indirubine comme dans la technique de WANG-OBERMAYER : évaporation, lavages, sulfonation et oxydation. Dans ce cas, si on rapporte le résultat à l'indigotine, il faut diviser le résultat par deux : chaque centimètre cube de permanganate correspond alors à 0 milligramme, 158 d'indigotine.

Toutes les colorations obtenues, quelle que soit la méthode employée, qu'on obtienne finalement de l'indigotine ou de l'indirubine, mais surtout dans ce cas, peuvent être comparées au colorimètre avec une solution titrée : 0 gr. 01 d'indigotine ou d'indirubine dans 25 cm<sup>3</sup> de SO<sup>4</sup>H<sup>2</sup> (à chaud) et étendue à un litre ; on a ainsi un dosage un peu moins précis que par sulfonation et titrage au Caméléon, mais bien suffisant pour la pratique courante.

Enfin, NICOLAS a indiqué une méthode de recherche de l'indoxyle basée sur la propriété que possède l'indoxyle de se combiner au furfural pour donner produit de condensation jaune à fluorescence verte passant dans le sulfure de carbone.

Tous ces procédés ne dosent dans l'urine que l'indoxyle à l'exclusion des autres corps indoliques, c'est-à-dire les acides indolacétique, indolcarbonique, et l'indol lui-même qui passe très souvent en nature dans l'urine ainsi que l'a montré LABAT.

Il est encore un chromogène urinaire que les méthodes examinées ne mettent pas en évidence : c'est le chromogène skatolique.

Quand on recherche l'indoxyle par la méthode de MAILLIARD, on remarque, après addition d'acide chlorhydrique, que l'urine prend une teinte rosée qui peut, avec certains échantillons, aller jusqu'au rouge franc et laisser déposer des flocons rouge brunâtre.

Les auteurs qui firent cette remarque donnèrent des appellations aussi

nombreuses que variées à cette coloration, mais il en est deux qui prirent le pas sur les autres et firent l'objet d'études très poussées : l'uroroséine de NENCKI et SIEBER et le rouge skatolique.

Ce pigment fait partie des couleurs aqueuses que MAILLIARD distinguait dans l'urine. En effet, si à l'urine sur laquelle on a fait agir HCl on ajoute du chloroforme et que par agitation, on enlève les couleurs indigotiques, la coloration rosée demeure dans la liqueur aqueuse, mais elle est entraînée par l'alcool amylique. Elle passe aussi dans l'acétate d'amyle, mais moins bien que dans l'alcool amylique qui est son solvant de choix. Mais elle est insoluble dans l'éther, la benzine, le sulfure de carbone et l'éther de pétrole.

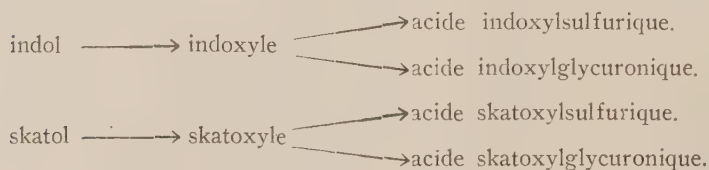
La solution amylique est décolorée par l'addition d'alcali en excès, mais lorsque la réaction redevient acide, la teinte reparait : ce qui différencie le rouge de skatol de l'indirubine. Une autre différence, c'est l'apparition rapide de la teinte rouge après addition d'acide, alors que dans le cas de l'indirubine, la formation est très lente et le pigment rouge se dissout alors dans le chloroforme.

Si on fait agir sur la solution amylique un réducteur assez doux tel que le zinc en milieu chlorhydrique, la teinte disparaît pour reparaitre par addition d'un oxydant prudemment manié, tel que les persulfates alcalins. L'action non ménagée des oxydants sur la solution amylique fait disparaître à jamais la coloration.

Cette coloration rouge insoluble dans  $\text{CHCl}_3$  provient d'un chromogène qui coexiste régulièrement dans l'urine avec l'indoxyle, mais elle est beaucoup plus vive quand on fait absorber au sujet du skatol ou quand on assiste à une plus grande formation de skatol dans son intestin. C'est là ce qu'a valu le nom de chromogène skatolique et de rouge de skatol à la teinte formée à partir de ce chromogène — sans que ces appellations préjugent en rien de la nature chimique de ces corps.

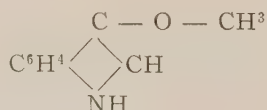
L'excrétion — en dehors bien entendu des sujets d'expérience auxquels on fait ingérer du skatol — n'est pas parallèle à celle de l'indoxyle, mais bien plutôt, complémentaire ; et ceci se comprend aisément puisque l'indol et le skatol dérivent, par putréfaction dans l'intestin, du même tryptophane alimentaire. Que pour une cause quelconque, la nature de la flore bactérienne venant à varier, la dégradation de cet acide aminé s'arrête au stade skatol, et la production du chromogène qui en découle sera notablement plus grande que celle de l'indoxyle, celui-ci tombant alors au-dessous de sa valeur moyenne.

Les expérimentateurs qui les premiers administrèrent du skatol à un animal remarquèrent que l'urine émise après cet essai contenait une quantité d'acide sulfurique conjugué plus forte qu'avant l'ingestion. De là à penser que le skatol s'éliminait sous forme de combinaison sulfurique oxydée comme c'est le cas pour l'acide indoxylsulfurique, il n'y avait qu'un pas et qui fût franchi allègrement, le schéma parallèle étant admis par tous :



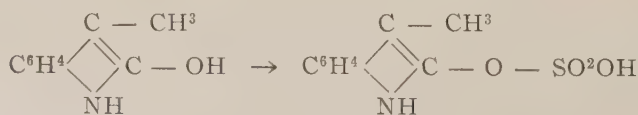
Mais L. C. MAILLARD fit remarquer dans sa thèse sur les colorants indigotiques, que pour séduisante que fut cette théorie, elle ne cadrerait pas avec les données de la chimie. En effet, pour que le skatol s'élimine sous forme d'éther sulfurique, il faut qu'il soit préalablement oxydé; on admettait cette oxydation et on appelait skatoxyle le produit en résultant. Or, le skatol ou  $\beta$  méthylindol peut s'oxyder de trois façons :

1° En donnant l'éther méthylique de l'indoxyle qui ne peut subir la conjugaison sulfurique :



2° Oxydation par perte de son chaînon méthyle en  $\beta$ , mais on retombe alors sur l'indoxyle.

3° Oxydation portant sur le carbone en  $\alpha$  donnant un corps susceptible d'éthérification :



Mais L. C. MAILLARD refusait d'envisager la possibilité de cette transformation « parce qu'un semblable éther ne pouvait donner naissance à une couleur indigotique »,

Or, si MAILLARD a raison en disant qu'un tel éther ne peut donner naissance à un corps indigotique, il nous semble qu'il se trompe en se basant sur cette affirmation pour refuter cette constitution du chromogène. Le rouge de skatol n'est pas nécessairement un dérivé indigotique comme il semble le croire et il oublie qu'il l'a rangé dans les couleurs non chloroformiques de l'urine. La raison invoquée paraît mal fondée à nos yeux pour affirmer que le skatol ne s'élimine pas sous forme d'éther sulfurique. C'est par d'autres observations que nous étairons cette dernière opinion.

Les auteurs qui avaient remarqué après administration de skatol un accroissement des éthers sulfuriques urinaires avaient opéré avec du skatol d'origine fécale toujours souillé d'indol; il est très probable que c'est à ces traces qu'était dû le supplément de sulfoéthers. Dès qu'on utilisa le skatol de synthèse, et ce fut MESTER le premier dans cette voie, on remarqua que le rapport d'A. ROBIN  $\frac{S \text{ conjugué}}{S \text{ total}}$  demeurait égal à ce qu'il était avant l'expérience. C'est donc que le skatol ne se combine pas à  $SO^4 H^2$ . Ce qui confirme cette opinion, c'est que PORCHER et HERVIEUX expérimentant sur des chiens au régime de la soupe au pain et au lait ayant de ce fait une élimination indoxylque pratiquement nulle ne remarquaient, à la suite d'ingestion du skatol de synthèse chez ces animaux, aucun passage dans l'urine de tarces d'indoxyle et aucune augmentation des éthers sulfuriques.

STOKVIS sépara le chromogène skatolique: de l'urine humaine est saturée de sulfate d'ammonium pour précipiter les pigments. Le filtrat est concentré au B. M. Après refroidissement, on sépare l'excès de sulfate d'ammonium précipité. On acidifie la liqueur par quelques gouttes d'acide acétique et on agite avec un volume égal d'éther acétique. Les deux chromogènes (skatolique et indoxylque) passent dans l'éther acétique qui se colore en jaune. L'extrait séparé de l'urine est agité avec de l'eau qui enlève le chromogène indigotique. On neutralise l'éther acétique et on agite avec de la lessive de soude pas trop concentrée qui s'empare du chromogène skatolique en se colorant en jaune. Ce chromogène n'est ni un dérivé sulfurique, ni glycuronique, car traité à chaud par un acide, il ne libère ni  $SO^4 H^2$  ni substances réductrices.

La formation de la couleur rouge aqueuse qui apparaît dans l'urine fut étudiée par HERTER; il pensa que les deux appellations urososéine et rouge de skatol s'appliquaient à des choses différentes quoique voisines. Il remarqua que des urines fraîchement émises additionnées d'acide chlorhy-

drique ne donnaient pas de coloration, mais après vingt quatre heures, dans les mêmes échantillons où des nitrites avaient pris naissance sous l'action des bactéries, se développaient une belle coloration rose d'uroroséine. La même coloration peut apparaître dans l'urine fraîche si on lui ajoute des traces de nitrites. Ceux-ci ne jouent pas dans ce cas un rôle de nitrosation, mais d'oxydant tel que les persulfates, le chlorate ou le permanganate de potasse.

Pour HERTER, l'uroroséine est de teinte plus vive que le rouge de skatol et bien que les spectres soient les mêmes, présentant une bande d'absorption estompée sur les bords et s'assombrissant sans s'élargir quand la concentration augmente, située à droite de la raie D entre  $\lambda = 577$  et  $\lambda = 550$ , les deux corps sont différents.

Le chromogène de l'uroroséine qu'il réussit à isoler à l'état cristallisé se montra identique à l'acide indolacétique préparé par la méthode d'HOPKINS et COLE par culture aérobie du *B. Coli* sur le tryptoplane. Ils ont des points de fusion sensiblement voisins de  $162-164^{\circ}$ , avec  $\text{Fe Cl}^3$  et  $\text{HCl}$ , ils donnent tous deux des colorations rouge cerise; l'addition de  $\text{HCl}$  et d'un nitrite provoque l'apparition d'une coloration rouge.

Au contraire, pour PORCHER et HERVIEUX, l'uroroséine et le rouge de skatol sont une seule et même chose.

PORCHER (*B. Soc. Chim.* 1909. T. I. p. 461) étudiant l'urine d'un chien auquel il avait administré une suspension huileuse de skatol remarque que cette urine traitée par l'acide hydrofluosilicique à  $40^{\circ}$  B. donnait à chaud une coloration qui laissait époser des flocons chargés de silices. La solution amylique de ces flocons donnait la bande d'absorption située entre D et E. Si on opérait à chaud, on avait une autre bande entre  $\lambda = 616$  et  $\lambda = 624$  que PORCHER impute à des impuretés ou à une altération de la couleur primitive.

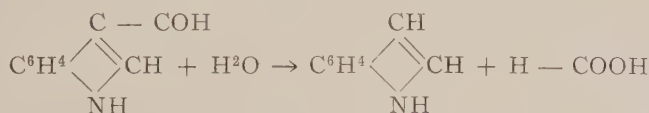
Les flocons lavés à l'acide chlorhydrique et à l'eau distillée, centrifugés après chaque lavage semblent être une matière colorante toujours identique à elle-même; ils sont insolubles dans le chloroforme et dans l'éther, ce qui les différencie de l'indirubine, très solubles dans l'alcool (la solution brunit à chaud), dans l'acétone (la solution brunit déjà à froid), dans l'alcool amylique. Cette dernière solution, traitée à chaud par le furfurol, donne une coloration brun sale. Si à la solution amylique on ajoute de l'acide chlorhydrique, il se développe une coloration rouge bourgogne et si on évapore alors, on a un résidu brunâtre qui est soluble dans l'éther et le chloroforme en donnant un dichroïsme.

Oxydé en milieu neutre ou alcalin par  $H^2O^2$  ou  $NO^3H$ , le rouge de skatol ne donne pas d'isatine.

Ces caractères prouvent une fois de plus toute la différence qu'il y a entre le rouge skatolique et l'indirubine. Mais l'indol existe indiscutablement dans la structure du pigment : la suspension des flocons purifiés par lavage donne de l'indol à la distillation, mais cette production d'indol est plus abondante et plus rapide si on opère en un lieu alcalin. En milieu acide, la suspension aqueuse de flocons donne un dégagement d'acide carbonique et il y a tout lieu de croire qu'au cours de la décomposition de rouge de skatol en indol, il y a formation transitoire d'acide indolcarbo- nique.

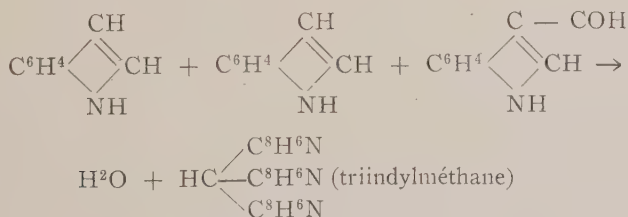
Il est fort possible, très probable même, que c'est cet acide qui constitue le chromogène skatolique ; par condensation, il donnerait le rouge de skatol.

Chauffant de l'indolaldéhyde à l'ébullition avec  $SO^4H^2$ , ELLINGER et FLAMAND remarquèrent qu'il y a décomposition de l'aldéhyde avec fixation des éléments de l'eau et formation d'indol et d'acide formique :



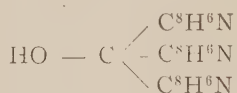
En même temps, il se développe une coloration rouge qui par refroidissement précipite en aiguilles rouges.

Il est probable qu'au cours de cette réaction, l'indol ainsi formé se combine avec une partie de l'indolaldéhyde non encore décomposée (par suite de la propriété générale que possède l'indol de se combiner aux aldéhydes) selon la réaction :



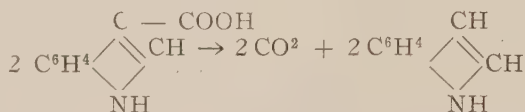
La coloration rouge se formant dans le chauffage de l'indolaldéhyde avec l'acide sulfurique est donc un colorant triindylméthanique. Et les auteurs

l'ont reproduite expérimentalement en chauffant du chloroforme avec l'indol, par une réaction analogue à celle de production du triphénylméthane. Le triindylméthane oxydé donne le triindylcarbinol.

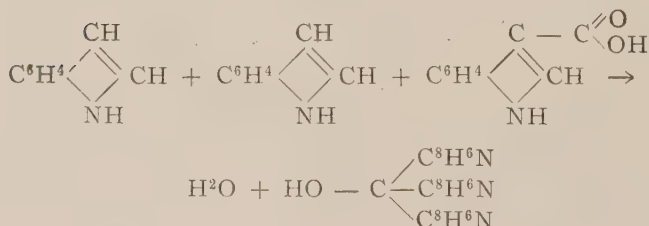


Cet alcool, salifié par  $\text{SO}^4\text{H}^2$  ou par  $\text{HCl}$  — dans le cas qui nous occupe ici, c'est par  $\text{SO}^4\text{H}^2$  — donnerait un éther coloré en rouge. Or, l'acide indolcarbonique se combinant à deux molécules d'indol donne précisément le triindylcarbinol — les deux molécules d'indol nécessaires à la réaction provenant de la décarboxylation d'une partie de l'acide indolcarbonique :

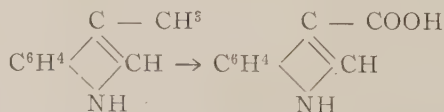
1°



2°



Il est séduisant de voir dans le chromogène skatolique l'acide indolcarbonique, provenant d'un travail bactérien incomplet sur le tryptophane, absorbé par l'intestin et éliminé par l'excréta urinaire. C'est là une théorie qui satisfait la logique: le skatol ingéré n'est pas éliminé en nature, ni sous forme d'éthers, ni sous forme d'indol — ces points semblent nettement établis par l'expérience — mais il l'est sous une forme chimique plus dégradée cependant, l'acide indolcarbonique:



C'est encore là le domaine de l'hypothèses. Il reste à confronter celle-ci avec la réalité des faits biologiques.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- BAAR. — *Wien. Arch. f. in. Méd.*, 355, 1922.  
BÆYER. — *Berichte*, 1311, 1879 et 2188, 1883.  
BECHER. — *Deutsch. Archiv. f. Klin. Med.*, 130, 1919; 134, 1920; 145, 1924.  
BERNIER. — *Thèse Pharm.*, Paris 1910 et *J. P. C.*, 1<sup>er</sup> nov. 1910.  
BERTHELOT A. — *C. R. A. Sc.*, 1567, 1913.  
FILLI. — *Bul. di Soc. Ital. di biol. sper.*, fév. 1931.  
BLUMENTHAL. — *Beit. z. in. Med. gew.*, 267, 1902.  
BOHÈME. — *Centralb. f. Bact.*, 129, 1906.  
BORIEN. — *J. P. C.*, 45, 1917.  
BOUMA. — *Zeitschr. f. ph. chem. Bd.*, 30-32 et *Deutsch. Med. Woch.*, 705, 1928.  
BRULE, DESTRIES et VAN DOOREN. — *Bul. Soc. Méd. Hôp. de Paris*, 707, 1924.  
BRULE, GARBAU et AMER. — *C. R. Soc. Biol.*, 1216, 19295.  
CHACE et V. MYERS. — *The Journ. of amer. Med. Assoc.*, 928, 1916.  
CHRISTOL. — *Soc. Sc. Méd. et Biol.*, Montpellier, 126, 1920.  
CREIGNON. — *J. Méd.*, Bordeaux, 411, 1915.  
DEARMANN. — *South. M. J.*, Birmingham, 231, 1926.  
DENIGES. — *C. R. Soc. Biol.*, 293, 1908.  
DERRIEN. — *Bull. Soc. Chim.*, 758, 1920.  
DERRIEN et Mlle GIRAUD. — *Bull. Soc. Chim.*, juillet 1917.  
DISTASO et SCHILLER. — *C. R. Soc. Biol.*, mai 1915.  
DORNER. — *Arch. f. Klin. Med.*, 213, 1914.  
DUFAY. — *J. P. C.*, 235, 1918.  
ELLINGER. — *Zeit. f. ph. Chem.*, Bd. 38, 39 et 41 et *Berichte*, 1801, 1904 et 2824, 1905.  
FRANCKE. — *C. R. Soc. Biol.*, 1053, 1928.  
GAUTHIER P. — *Presse Médicale*, 339, 1916.  
GAUTHIER et HERVIEUX. — *J. p. et path. gen.*, 593, 1907.  
GIRAUD (Mlle). — *Thèse méd. Montpel.*, 1917.  
GIRAUD. G. — *J. Méd. Franç.*, 329, 1930.  
GIRAUD (M. et G.). — *Montpellier Médical*, 15 juil. 1931.  
GILBERT et WEILL. — *C. R. Soc. Biol.*, 1899 et 1900.  
GUEZDA. — *C. R. A. Sciences*, 1584, 1899.  
GORTER et DE GRAFF. — *C. R. Soc. Biol.*, mars 1908.  
GRIMBERT. — *J. P. C.*, 451, 1912.  
HAAS. — *Münch. Med. Woch.*, 1043, 1915 et 1363, 1917.  
HERTER. — *J. of biol. chem.*, 251, 1906; 101, 1908 et 253, 1908.  
HERTER et FOSTER. — *J. biol. chem.*, N.-Y., 267, 906.  
HERVIEUX. — *C. R. Soc. biol.*, 996, 1907.  
HOPKINS et COLE. — *Journ. of Phys.*, 418, 1902 et 451, 1903.

- JAFFE. — *Centralbl. f. d. med. Win.*, 31, 1872.  
*Arch. f. d. geis. phys.*, 3, 1870.  
*Klin. Med.*, 702, 1877.
- JOLLES. — *Zeitsch. f. Physiol. chem.*, 320, 1915 et *Arch. d. Pharm.*, 246, 1928.
- KLEIN. — *Mediz. Klin.*, mai 1925.
- KÜHNE. — *Berichte*, 206, 1875.
- LABAT. — *C. R. Soc. Biol.*, juil. 1920.
- LABBE et VITRY. — *C. R. Soc. Biol.*, 172, 316 et 1142, 1907.
- LAROCHE, GRIGAUT et POUMEAU DELISLE. — *C. R. Soc. Biol.*, 450 et 532, 1929.
- MAILLARD. — *J. Physiol. et Path.*, 345, 1910 et *Bull. Soc. Chim.*, 1153, 1910.
- MERCKLEN, CHAUMERLIECK, GUILLAUME et ACHARD. — *Presse Médicale*, 1169, 1928.
- MICHETTI D. — *Anal. in. Journ. Phy. Path. Gen.*, 854, 1927.
- MYERS et MORRIS. — *Journ. of biol. chem.*, mars 1915.
- NACHTERGAEL. — *C. R. Soc. Biol.*, 1239, 1920.
- NICOLAS. — *C. R. Soc. biol.*, 183, 1906.
- OBERMAYER et POPPER. — *Deutsch. arch. f. Klin. Med.*, 72, 1911.
- OLIVET. — *Zeitsch. f. Klin. Med.*, Berlin, 195, 1929 et *Klin. Woch.*, 2439, 1928.
- PATEIN. — *J. P. C.*, 222, 1918.
- PHOCAS. — *Arch. Inst. Pasteur hellen.*, Ath. 145, 1928.
- PORCHER. — *C. R. A. Sc.*, 1210, 1909, *Bull. Soc. Chim.*, 852, 1907 et *Journ. Méd. Veter. et Zool.*, 60, 577 et 641, 1909.
- PUECH. — *Soc. Sc. Méd. et Biol.*, Montpellier, 110, 1920.
- RATHERY et SIGWALD. — *C. R. Soc. Biol.*, 1227, 1930.
- RATHERY et WAITZ. — *C. R. Soc. Biol.*, 215, 1930.
- ROGER. — *C. R. Soc. Biol.*, mars 1912, déc. 1915 et *Presse Médicale*, mai 1916.
- ROGER et CHIRAY. — *Gaz. Méd. Paris*, 46, 1915.
- SCHEFF. — *Biochem. Zeit.*, 410 et 451, 1926, 341, 1927.
- SICARD. — *Indol, Indican, Indigo*.
- SISLEY et PORCHER. — *C. R. Ac. Sc.*, avril 1911.
- STAAL. — *Zeitsch. f. Phys. Chem.*, 252, 1905.
- TAKOAKI. — *Bioch. Zeitsch.*, 402, 1910.
- TARSITANO. — *Folio Méd.*, 1202, 1930.
- THIERS. — *C. R. Soc. Biol.*, 103, 1929; *Presse Méd.*, 103, 1930; *C. R. Soc. Biol.*, 163 et 643, 1931; *J. Méd. Lyon*, 241, 1931.
- TSCHERTKOFF. — *Deutsch. Med. Woch.*, 36, 1914.
- TROIER et BERTHELOT. — *C. R. Soc. Biol.*, 259, 1912.
- VILLE. — *Bull. Soc. Biol.*, 757, 1910.
- WAHL et BAGARD. — *Bull. Soc. Chim.*, 451, 1909 et 56, 1911; *C. R. Ac. Sc.*, 898 et 1382, 1913.
- WARBRICK. — *West. M. Times*, 420, 1915-16; *Méd. Rec.*, N. Y., 1052, 1915.
- WOLMANN. — *An. Inst. Past.*, 24, 1911.
-

# TABLE DES MATIÈRES

---

|                        |   |
|------------------------|---|
| INTRODUCTION . . . . . | 7 |
|------------------------|---|

## PREMIÈRE PARTIE

|                                                          |   |
|----------------------------------------------------------|---|
| L'indol et ses dérivés au point de vue chimique. . . . . | 9 |
|----------------------------------------------------------|---|

### CHAPITRE PREMIER

#### ŒUVRE CHIMIQUE

|                                                          |    |
|----------------------------------------------------------|----|
| L'indol . . . . .                                        | 11 |
| Propriétés physiques . . . . .                           | 11 |
| Généralités sur l'indol et modes de préparation. . . . . | 12 |
| Réactions et propriétés chimiques . . . . .              | 22 |

### CHAPITRE II

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| Acides indolcarboniques . . . . .                               | 31 |
| Acide 2 — indolcarbonique ou $\alpha$ indolcarbonique . . . . . | 31 |
| Acide $\beta$ indolcarbonique ou 3 — indolcarbonique . . . . .  | 32 |

### CHAPITRE III

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| Acide indolacétique . . . . . | 33 |
|-------------------------------|----|

### CHAPITRE IV

|                                               |    |
|-----------------------------------------------|----|
| Méthylindols . . . . .                        | 37 |
| $\alpha$ Méthylindol ou méthylcétol . . . . . | 37 |
| $\beta$ Méthylindol ou skatol . . . . .       | 38 |

### CHAPITRE V

|                                          |    |
|------------------------------------------|----|
| Dérivés oxygénés de l'indol . . . . .    | 45 |
| $\alpha$ Oxindol ou oxindol 2 . . . . .  | 46 |
| $\beta$ Oxindol ou indoxyle . . . . .    | 47 |
| Dioxindol ou acide hydrindique . . . . . | 54 |
| Isatine . . . . .                        | 54 |

### CHAPITRE VI

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| Couleurs indigotiques . . . . .       | 57 |
| Indigotine ou bleu d'indigo . . . . . | 57 |
| Indirubine . . . . .                  | 70 |
| Le pourpre des mollusques . . . . .   | 71 |

## DEUXIÈME PARTIE

### L'INDOL ET SES DÉRIVÉS DANS LES ORGANISMES VIVANTS

#### CHAPITRE PREMIER

|                                            |    |
|--------------------------------------------|----|
| Action générale sur les êtres vivants..... | 75 |
|--------------------------------------------|----|

#### CHAPITRE II

|                                              |    |
|----------------------------------------------|----|
| Origine de l'indol et travail bactérien..... | 77 |
|----------------------------------------------|----|

#### CHAPITRE III

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| Chromogènes dérivés de l'indol ..... | 87 |
| Etudes des indoxylsulfates .....     | 89 |
| Etude des indoxylglycuronates ..     | 91 |

#### CHAPITRE IV

|                               |     |
|-------------------------------|-----|
| L'indoxyle dans le sang ..... | 101 |
|-------------------------------|-----|

#### CHAPITRE V

|                                           |     |
|-------------------------------------------|-----|
| L'indol et ses dérivés dans l'urine ..... | 111 |
|-------------------------------------------|-----|

|                  |     |
|------------------|-----|
| BIBLIOGRAPHIE .. | 123 |
|------------------|-----|



Vu.

*Le Professeur Président de thèse :*

PASTUREAU.

Vu et bon à imprimer :

Nancy, le 26 janvier 1934.

*Le Doyen :*

L. SEYOT.

Vu et permis d'imprimer :

Nancy, le 27 janvier 1934.

*Le Recteur de l'Académie,*

*Président du Conseil de l'Université :*

L. BRUNTZ.





